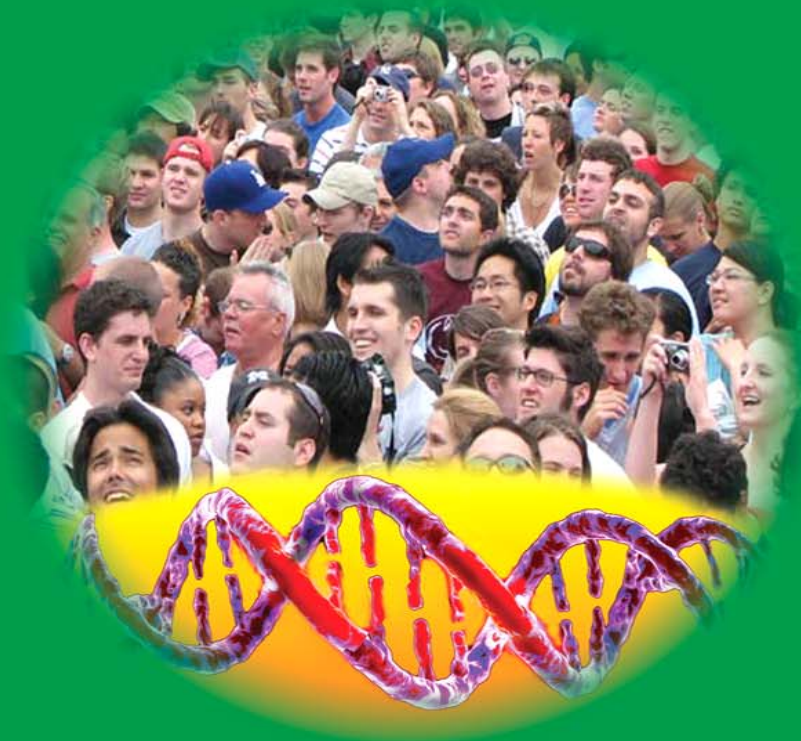


МОЛЕКУЛЯРНА ЕПІДЕМІОЛОГІЯ

За редакцією академіка НАМН України
В. М. ЗАПОРОЖАНА



ОДЕСЬКИЙ
МЕДУНІВЕРСИТЕТ

МОЛЕКУЛЯРНА ЕПІДЕМІОЛОГІЯ

*За редакцією академіка НАМН України
В. М. Запорожана*



Одеса

Одеський державний
медичний університет

2010

ББК 51.9:52.522.15
М 75
УДК 616.9-036.22:577.2

Автори: В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, В. Й. Кресюн, Ю. М. Ворохта,
В. Г. Марічереда, М. М. Чеснокова

Рецензенти: Ю. І. Кундієв — академік НАН України, чл.-кор. РАМН,
директор інституту медицини праці НАМН України
Г. М. Бутенко — академік НАМН України,
чл.-кор. НАН України, чл.-кор. РАМН, директор Інституту
генетичної та регенеративної медицини НАМН України

У книзі викладено історію зародження і розвитку нового наукового напрямку — молекулярної епідеміології. Визначена роль геноміки та інших «омік» у розвитку цієї науки. В окремих розділах описано досягнення молекулярної епідеміології у вивченні найбільш важливих соматичних захворювань, злоякісних новоутворень, інфекційних хвороб, а також молекулярно-епідеміологічні питання фармакогенетики і фармакогеноміки, розповсюдження і роль генів «довкілля». Наведено також результати молекулярно-епідеміологічних досліджень репродукції людини, біоетичні проблеми. Узагальнено досягнення молекулярної епідеміології, визначені перспективи її розвитку та можливі шляхи реалізації молекулярно-епідеміологічних досліджень в Україні.

The history of formation and development of a new scientific field — molecular epidemiology — is presented in the book. The role of genomics and other “omics” in development of this science is determined. Separate parts highlight the achievements of molecular epidemiology in the studies of the most important somatic diseases, cancers, infectious diseases and molecular-epidemiological issues of pharmacogenetics and pharmacogenomics, prevalence and role of “environmental” genes. There are given results of molecular-epidemiological researches of human reproduction, bioethical problems. The achievements of molecular epidemiology are summarized, and the perspectives of its development and further implementation of the molecular-epidemiological researches in Ukraine are defined.

Рекомендовано до видання Вченою радою
Одеського державного медичного університету
(протокол № 11 від 25.06.2010 року).

ISBN 978-966-443-031-6

© Колектив авторів, 2010
© Одеський державний медичний університет,
2010

Передмова

Молекулярна епідеміологія — розділ медицини, що швидко розвивається і характеризується синтезом методологічних підходів класичної епідеміології й молекулярної біології. Реалізація амбіційних проєктів і впровадження нових медико-біологічних технологій вивели сучасну медицину на якісно новий рівень. Медична допомога стає сьогодні персоналізованою, а стратегії профілактики й лікування найбільш значущих для соціуму захворювань — максимально обґрунтованими.

Монографія українських авторів містить багатий фактичний матеріал з питань становлення, розвитку й методології досліджень у практиці молекулярної епідеміології, біоетичних проблем використання медико-генетичної інформації. У різних розділах книги обговорюються як теоретичні, так і практичні питання сучасної клінічної й молекулярної епідеміології. Велика увага приділяється застосуванню біостатистичних методів і дизайну клінічних досліджень. Поряд з описом основних досягнень і підсумків роботи провідних наукових шкіл різних країн світу книга містить детальний аналіз перспектив застосування методо-

логічних підходів молекулярної епідеміології в Україні й інших країнах СНД. Окремий розділ присвячений вивченню на молекулярно-генетичному рівні взаємодії «людина-довкілля».

Широкі можливості, що відкриваються перед медициною із впровадженням у практику підходів молекулярної епідеміології, не вичерпуються індивідуалізацією діагностичних і терапевтичних алгоритмів, розв'язанням проблеми рефрактерності до проведеної медикаментозної терапії або вибору оптимального обсягу медичного втручання. Вони також пов'язані з розв'язанням таких важливих для системи охорони здоров'я у цілому проблем, як прогнозування епідеміологічної ситуації для великих популяційних груп. Мова йде про медицину предиктивну, медицину профілактичну, про синтез різних методологічних і організаційних підходів.

Вважаю, що колектив авторів цього доповіді блискуче впорався з поставленим перед ними завданням, і представлена на суд читача книга дасть імпульс до розвитку молекулярної епідеміології на пострадянському просторі.

В. А. КОРДЮМ,
академік НАМН України,
член-кореспондент НАН України,
доктор біологічних наук, професор

Preface

Molecular epidemiology is a rapidly developing field of medicine which is characterized by the synthesis of methodological approaches of classic epidemiology and molecular biology. The realization of ambitious projects and introduction of the new biomedical technologies promote the modern medicine to the new quality level when health care becomes true personalized, and the strategies of prevention and treatment of the most socially important diseases are maximally grounded.

The monograph of Ukrainian authors contains the rich factual material on problems of formation, development and methodology of researches into the practice of molecular epidemiology, bioethical problems, use of medical-genetic information. Different parts of the book deal with both the practical questions of the modern clinical and molecular epidemiology. Great attention is paid to application of biostatistical methods and clinical researches design. Along with description of the main achievements and results of the leading

scientific schools the book includes the detailed analysis of the perspectives of methodological approaches of molecular epidemiology in Ukraine and other countries of former USSR. The special chapter is dedicated to the study of interaction “human-environment” at the molecular-genetic level.

Introduction into the practice of molecular epidemiology approaches open broad opportunities for the medicine. They are not limited with individualizing diagnostic and therapeutic algorithms, solving the problem of resistance to medication therapy or the choice of optimal volume of treatment, they also concern the solving such important medical problem as prognosis of epidemiological situation to the large population groups. The question is about predictive medicine, preventive medicine, synthesis of various methodological and organizational approaches.

I think that the author team has coped with their task very well and the given book well initiate the development of molecular epidemiology in the former USSR countries.

V. A. KORDYUM,
Academician of the National Academy of
Medical Sciences of Ukraine,
a fellow of the National Academy of
Sciences of Ukraine,
MD, professor

Сучасна епідеміологія зробила вагомий внесок у розв'язання важливих проблем у боротьбі з хворобами, які найбільш розповсюджені та викликають високу смертність, інвалідизацію, значно знижують якість життя людини. У першу чергу, це стосується серцево-судинних захворювань, діабету, інших ендокринних порушень, онкопатології. Результати, отримані внаслідок епідеміологічних досліджень зазначених захворювань, дозволили переглянути стратегію і тактику в профілактиці, діагностиці та лікуванні багатьох недуг. Клінічна епідеміологія стала підґрунтям доказової медицини, яка має величезне соціальне й економічне значення для людства.

Бурхливий розвиток молекулярної біології наприкінці ХХ ст. створив умови для реалізації амбіційного проекту «Геном людини». Успіхи у вивченні генетичного апарату людини привели до виникнення нового наукового напрямку – геноміки. Вважається, що ця наука буде однією з домінуючих у ХХІ ст. Незабаром після виникнення вона сама розгалузилася на кілька наукових напрямів і започаткувала розвиток нових розділів, присвячених не тільки фундаментальним дослідженням, але й тим, які швидко набувають практичного застосування (транскриптоміка, РНК-оміка, протеоміка, метаболоміка).

Геноміка сприяла розвитку молекулярної епідеміології, яка тепер може вивчати тонкі механізми генетичних факторів організму людини й навколишнього середовища, створення умов для розвитку певної хвороби. Сучасні молекулярно-

генетичні методи у сполученні з методами класичної епідеміології дозволили поновому розглянути внесок внутрішніх і зовнішніх чинників у формування можливого ризику виникнення захворювань. Значні успіхи, зокрема, досягнуті в онкології.

У запропонованій книзі зроблена спроба створити у читача уяву про суть молекулярної епідеміології, історію розвитку, основні методи, досягнення цієї науки, завдання, які їй необхідно розв'язувати вже сьогодні та в недалекому майбутньому. Книга розрахована, у першу чергу, на практичних лікарів, які вже знають основи клінічної епідеміології та застосовують їх у своїй роботі.

У монографії послідовно викладено визначення молекулярної епідеміології як науки та її зв'язок з клінікою та клінічною епідеміологією, описано епідеміологічні методи та їх застосування з використанням молекулярно-біологічних даних. В окремому розділі стисло повідомляється про досягнення геноміки та інших «омік», що формують багатовимірну біологію, що є рушійною силою сучасних молекулярно-епідеміологічних досліджень. Читач також познайомиться з досягненнями молекулярної епідеміології в різних галузях медичної практики, які мають першочергове значення для здоров'я людства (онкологічні, інфекційні, серцево-судинні та інші захворювання). Велика увага приділяється проблемам оптимізації медикаментозного лікування за допомогою досягнень сучасної фармакогенетики та фармакогеноміки.

Окремий розділ присвячено проблемам молекулярної епідеміології довкілля, токсогенетики та токсеноміки.

Розвиток молекулярної епідеміології сприяв виникненню певних біоетичних, правових, соціальних проблем. Про це йдеться в останньому розділі книги. Насамкінець, автори пропонують своє бачення подальшого прогресу молекулярної епідеміології та шляхів її розвитку в Україні.

Зважаючи на бурхливий розвиток молекулярної епідеміології, неможливо охопити всі напрями та досягнення цієї науки в межах однієї книги. Головною метою було донести до читача її основи.

Колектив авторів висловлює подяку всім читачам, які надішлють нам побажання і зауваження, що будуть використані у подальшій роботі.

В. М. ЗАПОРОЖАН,
лауреат Державної премії України,
академік НАМН України,
доктор медичних наук, професор

Introduction

The modern epidemiology made a valuable contribution to solution of important problems on prevention of diseases which are the most spread and cause high mortality, disability and decrease life quality significantly. They are cardiovascular diseases, diabetes, other endocrine disorders, cancers in the first place. Results obtained during the epidemiological studies of these diseases allow to revise the strategy and tactics in the prevention, diagnosis and treatment of a number of diseases. The clinical epidemiology became a background of the evidence based medicine having the enormous social and economical importance for the humanity.

In the late XX rapid development of the molecular biology created conditions for the realization of the ambitious project “Human Genome”. Good progress in the study on the genetic apparatus of a human resulted in the appearance of a new scientific direction — genomics. This science is considered to be one of the dominant ones in XXI century. Soon after the appearing genomics was divided into some scientific trends and initiated new fields which not only deal with the fundamental researches but also get practical application (transcriptomics, RNA-omics, proteomics, metabolomics).

Genomics promoted the development of molecular epidemiology, which could now study fine mechanisms of genetic factors of a human organism and environment, creating conditions for a definite disease. The modern molecular-genetic methods in the combination with the methods of classic epidemiology allow to renew the scope of the

role of endogenous and exogenous factors in forming risk of disease. A good progress was particularly obtained in oncology.

It is made an attempt to provide a reader with the basic concepts about molecular epidemiology, its history, basic methods, achievements and objectives which should be solved now and in the future. The book is intended for practitioners who know the fundamentals of clinical epidemiology and use them in their work.

The monograph gives the definition of molecular epidemiology as a science and its association with the clinics and clinical epidemiology. Epidemiological methods and their application with the use of molecular-biological data are described. The special chapter contains a short description of genomics and other “omics”, forming the multidimensional biology which is an engine of the modern molecular-epidemiological researches. The next chapters concern the achievements of molecular epidemiology in the various fields of health care which are considered to be the highest priority for public health (oncologic, infectious, cardiovascular and other diseases). Great attention is paid to problems of medical treatment optimization with the help of achievements of modern pharmacogenetics and pharmacogenomics. A separate part is dedicated to problems of environmental molecular epidemiology, toxicogenetics and toxicogenomics.

The development of molecular epidemiology caused some bioethical and juridical social problems. These issues are discussed in the last chapter of the book. In the conclusion the authors give their

view about the further progress of molecular epidemiology and the ways of its progress in Ukraine.

Taking into account rapid development of molecular epidemiology it is impossible to comprise all trends and achievements of this

science in one book. The main purpose of the authors is to acquaint the Reader with the main principles.

The authors express their thanks to all the readers who will send the remarks which we use in the future work.

**V. M. ZAPOROZHAN,
State prize winner of Ukraine,
Academician of the National Academy of
Medical Sciences of Ukraine,
PhD, MD, professor**

Розділ 1. Клінічна епідеміологія: історія розвитку, завдання, методи

CLINICAL EPIDEMIOLOGY: HISTORY OF THE DEVELOPMENT, OBJECTIVES AND METHODS

There is discussed the history of clinical epidemiology development, its goal, objectives and methods of investigation. The differences between clinical epidemiology and its predecessor — classic epidemiology — and common characteristics of using methods of epidemiological researches are underlined.

1.1. Становлення клінічної епідеміології

Визначення прогнозу захворювання, оцінка ефективності діагностики і лікування є надзвичайно важливими для медичної практики [1–3]. Тривалий час вирішення цих питань цілком залежало від досвіду окремого лікаря та було суто емпіричним. Славені лікарі минулого описували прогностично несприятливі симптомокомплекси, нерідко трактуючи їх значення з вражаючою тонкістю і глибиною. Класичним прикладом може бути прогностичне значення описаних Гіппократом (460–377 рр. до н. е.) змін зовнішнього вигляду хворого, відомих зараз як *facies Hippocratica*. Праці цього вченого, зокрема його “Prognosticum”, містять опис багатьох відомих на той час прогностично значущих ознак хвороб, зокрема положення хворого у ліжку, вираз його обличчя, забарвлення і температура шкіри тощо [4]. Кожному лікарю відомі імена Цельса, Авіценни та інших лікарів минулого, у працях яких також міститься опис значної кількості прогностично важливих симптомів [5–7].

З часом, у зв'язку з розвитком наукової медицини, прогнозування захворювань усе більше почало спиратися на діагностику, зокрема на визначення нозологічної належності захворювання, його етіологію і патогенез, фахівці враховували питання індивідуальної та громадської гігієни

[8–10]. Значний вклад у розвиток прогнозу, як особливого виду пізнавальної діяльності лікаря, внесли представники класичної російської терапевтичної школи — М. І. Пирогов, С. П. Боткін, Г. А. Захар'їн, О. О. Остроумов та ін. [11–14]. Запорукою достовірного медичного прогнозування вони вважали досягнення медичної науки та суспільно-історичної практики, віддзеркалених через призму власного клінічного досвіду лікаря. С. П. Боткін (1888) підкреслював, що знання лікаря, його досвід і мистецтво обумовлюють більшу чи меншу ймовірність завбачення [12]. Велику увагу проблемі клінічного прогнозу приділяли також представники німецької та французької терапевтичних шкіл (Ж. Н. Корвізар, Р. Т. Лаєнек, Й. Шкода, Л. Траубе, А. Труссо, Р. Опольцер та ін.) [15].

Проте на цьому етапі розвитку медицини прогнозування було виключно суб'єктивним, кожен лікар мав змогу тлумачити клінічні прояви на власний розсуд, без суттєвої доказової бази.

Згодом у клінічній медицині викристалізувалося 4 типи прогностичних завдань [16]: 1) прогнозування стану здоров'я здорових людей в обстановці впливу на них патогенних факторів, зокрема в екстремальних ситуаціях; 2) прогнозування ризику захворювання; 3) прогнозування перебігу хвороби; 4) прогнозування її закінчення. Два останніх завдання тісно пов'язані між собою, тому розглядалися і розв'язувалися паралельно, при-

чому в кожному випадку захворювання. Сьогодні вони розв'язуються клінічною епідеміологією.

1.2. Клінічна епідеміологія як наукова дисципліна

Клінічна епідеміологія — наука, яка вивчає закономірності розповсюдження будь-яких захворювань, здійснює прогнозування їх у кожного конкретного пацієнта на основі вивчення клінічного перебігу хвороби в багатьох аналогічних випадках [1; 17]. Для цього вона використовує відповідні наукові методи вивчення груп хворих, що забезпечує точність прогнозів.

На відміну від інших медичних наук, методологія клінічної епідеміології передбачає проведення досліджень виключно на людях, у клінічних умовах [17; 18]. Отже, виключається можливість використання для розробки методів лікування або діагностики лабораторного експерименту на тваринах або в модельних середовищах (культури тканин, клітинних мембран тощо). Клінічна епідеміологія здійснює методологічне забезпечення клінічних досліджень, їх об'єктивну оцінку, по суті є методологічною основою доказової медицини [19–22].

Термін «клінічна епідеміологія» виник із назв двох «споріднених» наук: клінічної медицини й епідеміології. Клінічною вона називається тому, що розв'язує клінічні проблеми, відповідає на різні медичні питання та рекомендує відповідні клінічні рішення, які ґрунтуються на найбільш надійних фактах [17; 23]. Вона називається епідеміологією, бо значна кількість її методів дослідження свого часу була запропонована епідеміологами, і допомога конкретному хворому тут розглядається в контексті великої популяції, до якої належить і сам пацієнт (рис. 1.1).

Слід зазначити, що розвиток епідеміології в СРСР і західних країнах ішов різними шляхами [24–26]. Уже у 30-х роках минулого сторіччя розуміння суті та завдань епідеміології в Радянському Союзі, внаслідок об'єктивних причин, суттєво відрізнялося від загальноприйнятого за кордоном. Це пояснюється тим, що в умовах чіткого обліку захворюваності, зокрема інфекційної, більш перспективним виявилось планування та впровадження масштабних програм боротьби з поширеними інфекційними захворюваннями. Тому до кінця XX ст. у нашій країні епідеміологія сприймалася виключно як наука про епідемічний процес [27–30].

Натомість в умовах відсутності уніфікованої системи обліку випадків захворювань, яка існувала за кордоном, фахівці За-

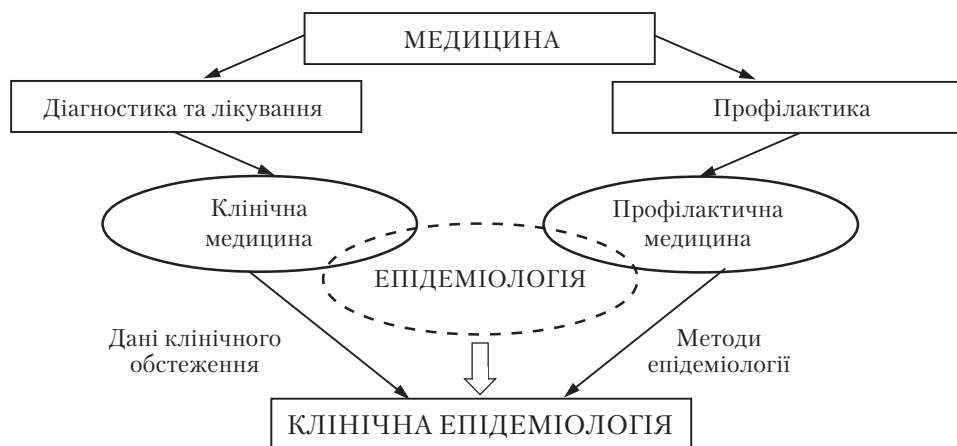


Рис. 1.1. Взаємозв'язок клінічної епідеміології з іншими медичними науками

хідної Європи і Північної Америки були змушені більше уваги приділяти моніторингу ситуації, причому в арсеналі методів більш активно почали використовуватися статистичні методи аналізу [31–35]. Це дозволило на підставі оцінки неповних масивів даних, дискретної інформації розраховувати тенденції та розробляти лікувально-профілактичні заходи. Крім того, у розвинутих країнах швидко відбулася зміна характеру захворюваності — соматична патологія почала переважати над інфекційною, а високоінтенсивне антропогенне навантаження змусило широко використовувати статистичні й епідеміологічні методи у практиці еколого-гігієнічних досліджень [36; 37].

На відміну від традиційної для пострадянських країн схеми, коли курс епідеміології викладають переважно на кафедрах епідеміології або інфекційних хвороб вищих медичних навчальних закладів, а епідеміологію неінфекційних хвороб — як факультатив, у країнах Західної Європи епідеміологія є самостійною базовою дисципліною, яка розглядає процеси формування популяційного здоров'я незалежно від їх причинності [38–40].

Початок розвитку неінфекційної епідеміології в СРСР пов'язаний з іменем академіка РАМН В. Д. Беякова [41; 42]. Саме за його активної участі на теренах СНД був виданий підручник, створений експертами ВООЗ (R. Beaglehole, R. Bonita, T. Kjellstrom. Basic epidemiology) [43], який у всьому світі вважається базовим для вищих медичних навчальних закладів.

Як наука клінічна епідеміологія сформувалася наприкінці 80-х — початку 90-х років ХХ ст. Спочатку вона займалася виключно кількісною оцінкою терапевтичної ефективності нових лікарських засобів [43–46]. У подальшому її принципи та біостатистичні методи поширилися на всі галузі теоретичної і практичної медицини. Тепер вона є «мовою сучасної науки», тобто наукою суто самостійною й об'єктивною. Зважаючи на суттєве значення для медицини, клінічна епідеміологія є обов'язковим предметом для навчан-

ня студентів багатьох університетів розвинутих країн.

У практичному сенсі клінічна епідеміологія забезпечує доказову медицину необхідними методами біостатистики, об'єктивними критеріями достовірності та способами узагальнення результатів клінічних досліджень [19–22; 46; 47]. Це, перш за все, стосується клінічних випробувань різних методів лікування й управління, в результаті чого до мінімуму зменшується кількість помилок — стандартних, випадкових тощо. Цим самим забезпечується висока достовірність, включаючи прогнози.

Згідно з вимогами клінічної епідеміології, максимум зусиль у клінічних випробуваннях витрачається не на реєстрацію змін у перебігу захворювань, а на досягнення глобальних кінцевих результатів дослідження, як-от: захворюваність, летальність, якість життя, інвалідизація тощо [17; 48–51]. Так, результати клінічних випробувань хінідину та лідокаїну підтвердили наявність у них протиаритмічних властивостей [52]. Вони дійсно відновлюють серцевий ритм, таким чином запобігають загибелі пацієнтів, у яких розвинулася шлуночкова тахіаритмія через інфаркт міокарда. Але тривале застосування цих засобів для профілактики серцевих аритмій призводить до збільшення смертності хворих на 33 %.

Методологічні підходи клінічної епідеміології ґрунтуються на таких положеннях [17; 53]:

- у більшості випадків прогноз, діагноз і результати лікування для конкретного хворого однозначно не визначені, тому вони повинні мати вираження через імовірність;

- ці ймовірності для конкретного хворого найкраще оцінюються на ґрунті попереднього досвіду, накопиченого лікарями відносно значних груп аналогічних хворих;

- клінічні спостереження проводяться на вільних у своїй поведінці хворих лікарями з різним рівнем знань і персональною думкою, тому не виключаються систематичні помилки, які призводять до необ'єктивних висновків;

- будь-які спостереження, включаючи клінічні, піддаються впливу випадковості;

— для уникнення неправильних висновків лікар повинен покладатися на дослідження, які ґрунтуються на суворих наукових принципах з використанням методів, що сприяють мінімізації систематичних і обліку випадкових помилок.

Слід зауважити, що будь-які біологічні явища не можуть вважатись еквівалентом клінічних ефектів, аж доки не буде встановлений їх прямий взаємозв'язок [17]. Це положення клінічної епідеміології часто ілюструється результатами лікування хворих на ВІЛ-інфекцію [1]. Виходячи з патогенезу цього захворювання, можна передбачити, що такі кінцеві клінічні наслідки, як опортуністичні інфекції, саркома Капоші і смерть, можна було б покращити з допомогою втручань, які утруднюють зниження кількості лімфоцитів CD4⁺ і зменшують рівень антигену р24 [54; 55]. Однак, як встановлено, ці маркери не дають повної уяви щодо прогресування ВІЛ-інфекції та реакції на лікування, наприклад зидовудином, дидезоксинозином чи дидезоксицитидином. Тому наївно припускати, що вплив втручання лікаря на долю ВІЛ-інфекції може здійснюватися виключно за рахунок фізіологічних параметрів. Тут кінцевий результат визначається іншими факторами. Отже, клінічні рішення повинні ґрунтуватися на безпосередніх даних щодо поліпшення клінічних результатів.

Будь-яка клінічна наука, тим більше клінічна епідеміологія, особливо переконлива, коли забезпечує, хоча б деякою мірою, кількісний підхід [56]. Частково це обумовлено тим, що кількісні результати більш переконливі, дають можливість оцінити помилку, полегшують обмін інформацією між лікарями, лікарями і пацієнтами. Деякі клінічні наслідки, наприклад смерть, хвороба або інвалідизація, завжди подаються в цифрах. Незважаючи на те, що якісні спостереження у клінічній практиці також важливі, клінічна епідеміологія серйозно їх не враховує.

Звичайно, не завжди вдається точно прогнозувати той чи інший клінічний результат. Скоріше можна визначити його ймовірність, тим більше, що клінічна епідеміологія це допускає [17].

Крім того, важливими для клінічної епідеміології є кінцеві результати: як для хворих, так і для медичного персоналу. На Заході в англomовному варіанті вони подаються у вигляді п'яти "D" [57]:

— смерть (Death) пацієнта, особливо коли вона передчасна;

— захворювання (Disease), яке завжди сприймається пацієнтом як небезпечна хвороба;

— дискомфорт (Discomfort) у вигляді болю, нудоти, задишки, свербіжу, шуму у вухах тощо;

— інвалідизація (Disability) — нездатність до звичайної діяльності вдома, на роботі, під час відпочинку;

— незадоволеність (Dissatisfaction) — емоційна реакція на хворобу та лікування, наприклад, туга або гнів.

Саме ці явища лікарі намагаються зрозуміти, завбачити, обговорити та змінити у процесі лікування хворих.

За даними професорів Гарвардського університету Роберта і Сюзани Флетчерів і професора університету штату Вашингтон Едуарда Вагнера — авторів відомої монографії «Клінічна епідеміологія» [17], традиційне клінічне навчання у медичних закладах освіти зорієнтовано на пізнання механізмів розвитку захворювань на основі інформації, отриманої з біохімії, анатомії, фізіології та інших фундаментальних наук. Вони визначають науковий світогляд студентів-медиків. Така освіта виховує переконання в тому, що з'ясування подробиць захворювання у конкретного хворого становить сутність медицини, тому, знаючи механізми хвороби, можна передбачити її перебіг і правильно лікувати.

Однак клінічні прогнози, які ґрунтуються лише на знаннях механізмів захворювання, слід розглядати як гіпотези, які повинні витримати перевірку в клінічних випробуваннях. Справа в тому, що механізми розвитку багатьох захворювань розкриті лише частково, а на завершення їх суттєво впливає багато факторів, зокрема генетичних, фізичних, соціальних. Для лікарів, які бажають мати надійну інформацію щодо конкретного хворого, знання в галузі клінічної епідеміо-

логії є не менш необхідними, як і з анатомії, патології, біохімії, фармакології. Тому клінічну епідеміологію слід також розглядати як одну з фундаментальних наук, на якій ґрунтується сучасна медицина [17; 58; 59].

Однією з досить складних, але дуже важливих проблем клінічної епідеміології є прогнозування перебігу захворювання. Для цього нею розроблена відповідна методологія, згідно з якою проводяться прогностичні дослідження.

Прогноз найкраще описується ймовірністю виникнення змін у будь-який момент розвитку захворювання. Принципово це можна здійснити при спостереженні когорти хворих доти, поки очікуваний результат не настане в усіх, у кого він може настати. Зауважимо, що когортою вважають групу осіб, які попередньо були об'єднані будь-якою ознакою і яких спостерігали протягом відповідного проміжку часу, щоб досліджувати, що відбудеться в майбутньому [1–3; 17].

Звичайно, не завжди вдається точно прогнозувати той чи інший клінічний результат. Скоріше можна визначити його ймовірність. Прикладами можуть бути такі прогнози-твердження: «напади стенокардії виникають у одного зі 100 чоловіків середнього віку на рік»; «паління збільшує ризик смерті у будь-якому віці вдвічі»; «у жінок естрогени удвічі зменшують ризик переломів, зумовлених остеопорозом».

В останні роки у світі зріс інтерес до розробки заходів щодо поліпшення організації медичної допомоги, які спираються на високоякісні наукові дослідження [59; 60]. Цей інтерес викликаний тією обставиною, що деякі медичні та соціальні втручання, які широко застосовуються у практиці з упевненістю, що вони ефективні, дуже часто є небезпечними, недостатньо ефективними або занадто дорогими, тимчасом як деякі втручання, які, за даними досліджень, є достатньо ефективними, просто ігноруються. Систематизоване об'єднання результатів досліджень, оцінка їхньої якості, синтез і аналіз отриманих даних для того, щоб зробити їх більш доступними, підвищують доказовість методу для дослідників,

організаторів охорони здоров'я, лікарів і громадськості.

Широкі маси населення і пацієнти щиро вірять, що діяльність професійних медиків «наукова», тобто заснована на результатах наукових досліджень високої якості. Проте коли проводиться аналіз існуючої практики, часто виявляється, що медичне втручання належним чином не оцінювалося, а якщо таке дослідження і проводилося, то не оцінювалася доказовість ефективності; практика часто віддзеркалює місцеву або національну моду або традицію [61–64].

Відсутність адекватної бази знань з більшості питань медичної допомоги було висвітлено в 1972 р. англійським епідеміологом Арчі Кохраном у його хрестоматійній монографії “Effectiveness and Efficiency” [65]. Він наполягав на необхідності доказів для інформованого вибору втручання організаторами охорони здоров'я, професіоналами й споживачами медичних послуг і звернув увагу на недостатній доступ до результатів оцінки якості досліджень.

Критика привела до того, що протягом 10 років зусилля вчених різних країн світу були сконцентровані на об'єднанні результатів усіх рандомізованих контрольованих досліджень (РКД) з питань акушерської й перинатальної допомоги. Ця робота започаткувала міжнародну ініціативу щодо об'єднання результатів клінічних досліджень у медицині — Кохранівського співробітництва [66–70].

1.3. Поняття про доказову медицину. Методологічні основи доказової медицини

Нині зростає вплив «науково обґрунтованої практики»¹ (Evidence Based Medicine — ЕВМ) — наукового напрямку, що являє собою сумлінне, точне й осмислене використання результатів найбільш доказових з існуючих клінічних досліджень для вибо-

¹ Синоніми: доказова медицина; практика, заснована на доказах.

ру методів лікування конкретних хворих [1]. Розвиток доказової медицини має значно знизити витрати на медичну допомогу, які неухильно зростають в останні роки.

Сьогодні принципи науково обґрунтованої практики застосовуються не тільки в медицині, але й в інших наукових дисциплінах і галузях. Наприклад, співробітництво Кемпбелла (Campbell Collaboration) складає систематичні огляди з ефективності втручань у таких сферах, як освіта, право, соціальна допомога [71].

Водночас різко зріс обсяг публікацій результатів наукових досліджень у галузі медицини. У багатьох наукових працях автори використовують різні методи і часто роблять абсолютно протилежні висновки. При цьому оцінити результати дослідження важко і дослідникам, і спонсорам досліджень, і читачам. Це може призвести до досить серйозних наслідків, у тому числі до затримки наукового прогресу, труднощів з інтерпретацією результатів, що розрізняються. Сьогодні дослідження меншою мірою націлені на нагромадження нових знань і більшою — на створення оглядів [72; 73].

Дуже часто при плануванні дослідження недостатня увага приділяється його науковій новизні [74; 75]. Це призводить до дублювання й зниження цінності отриманих даних. Багато досліджень нескордановані, їм не вистачає кумулятивності, ретельного попереднього планування.

Організатори охорони здоров'я й практикуючі лікарі нерідко ігнорують дослідження або використовують їх результати селективно [17; 76]. Дефекти збору інформації призводять до зростання ролі «експертів», які найчастіше любіють теорії або ідеології, керуючись суб'єктивними причинами [17; 21; 76].

Нарешті, помилкова інтерпретація результатів призводить до того, що практичні лікарі не поінформовані про небезпечні/корисні медичні втручання [17].

Важливою складовою частиною доказової медицини є технологія об'єднання існуючих доказів у формі, що може бути використана практичними лікарями, систе-

матичних оглядів [17; 21; 66–70; 77; 78]. Складання систематичних оглядів — один із перших кроків у інформаційному ланцюжку, за яким результати досліджень потрапляють до організації охорони здоров'я і практики. Основні характеристики систематичного огляду наведені у табл. 1.1.

Важливість обґрунтування практики результатами систематичних оглядів була продемонстрована в одній зі статей, що вийшла на початку 1990-х [79]. У ній порівнювалися результати метааналізу досліджень з лікування хворих на стенокардію з рекомендаціями експертів, опублікованими у журнальних оглядах і підручниках у той же період, що й результати досліджень. Експерти рекомендували неефективне лікування, а ефективні види лікування упускали з уваги. Минув чималий час між публікаціями результатів досліджень і внесенням змін у рекомендації експертів [79]. У результаті були втрачені людські життя, які можна було врятувати, марно витрачені фінансові та матеріально-технічні ресурси.

Переваги систематичних оглядів і синтетичного підходу до аналізу результатів досліджень полягають у такому [80; 81]:

- допомагають демократизувати наукові дослідження та полегшують використання їх результатів, сприяють більшій доступності бази знань, у тому числі для громадськості. Це може зменшити значення «експертів» як зосередження знань, що в минулому призводило до збільшення кількості помилок;

- пропонують науковій громадськості безцінне джерело інформації, що дозволяє узагальнювати накопичений у минулому матеріал, упорядковувати нові матеріали й розробляти методологію визначення тем і ключових напрямків наукових досліджень. Це дає змогу забезпечити застосування результатів досліджень і проведення оцінки теорій у усьому світі;

- пропонують можливість дослідникам визначати основні прогалини в дослідженнях, пропонувати нові рішення в рамках накопичених знань й уникнути непотрібного дублювання досліджень;

- створюють базу знань для практикуючих лікарів і організаторів охорони здо-

ров'я, які можуть використовувати огляди для оцінки ефективності різних форм і видів надання медичної допомоги;

— сприяють кумулятивному розвитку науки. Вкрай рідкісне дослідження проводиться на зовсім новому ґрунті, науковці спираються на досвід попередніх досліджень;

— допомагають більш зрозуміло визначити те, чого ми не знаємо, а також ступінь незрозумілості.

Використання систематичних оглядів не тільки дозволяє одержати кращі результати, але й підвищити їх якість і ступінь довіри до них.

Проте факт, що дослідники використали набір технічних засобів для складання систематичних оглядів, не гарантує їхню якість, сліпе слідування правилам може призвести до невірних висновків (GIGO — garbage in — garbage out: «сміття на вході — сміття на виході») [80–82]. Іншими сло-

Таблиця 1.1

Зміст і завдання систематичного огляду

Мета	Характеристика
Ясність мети огляду	Протокол, що містить завдання дослідження, опис об'єктів і методів дослідження
Уникнути невиключення в огляд релевантних досліджень	Вичерпні, чутливі й документовані стратегії дослідження з використанням бібліографічних баз даних, ключових слів, можливо, ручного пошуку, можливо, спроби включення неопублікованих досліджень ¹ , не обмежених країною або мовою
Уникнути випадкового вибору/виключення досліджень	Докладні та верифіковані критерії вибору й виключення, розроблені для оцінки результатів дослідження
Ретельне резюмування даних досліджень	Використання таблиць відбору даних з перевіркою їхньої повноти
Оцінити валідність результатів дослідження	Розробити й використати критерії якості для оцінки валідності досліджень за допомогою оцінки дизайну, проведення аналізу досліджень з оцінкою розміру помилки, зсувів і шансів
Оцінити розмір асоціацій і джерела розмаїтості даних дослідження	Огляд підстав, чому результати дослідження можуть використовувати різні відповідні кількісні моделі для оцінки ролі таких факторів, як стан пацієнта, дози, тривалості й природи втручання. Там, де це можливо, дослідження поєднують для одержання загального ефекту
Оцінити якість результатів огляду	Перевірка чутливості результатів виборів і припущень, зроблених в огляді, таких як критерії включення й валідності, які впливають на дослідження та метод, використаний для об'єднання даних
Критична оцінка або повторення огляду	Звіт про ключові аспекти створення огляду, методи, аналіз і результати повинен включати резюме протоколу, стратегію пошуку, таблицю основних елементів кожного включеного дослідження. Звіт може доповнюватися графічним описом
Допомогти читачеві оцінити застосування огляду для потреб організаторів охорони здоров'я, практикуючих лікарів, дослідників	Обговорення методологічних обмежень як відносно первинних досліджень, так і огляду. Забезпечити використання доказів дослідження, у тому числі шляхом розробки рекомендацій із застосування результатів дослідження

¹ Депоновані рукописи, тексти дисертацій та ін.

вами, методологія збирання даних має для сучасної доказової медицини пріоритетне значення.

Якщо систематичні огляди надають наукові докази для впровадження результатів досліджень у практику й прийняття рішень, то метааналіз є аналітичною частиною систематичних оглядів. Власне кажучи, метааналіз є складним інструментом узагальнення досвіду, одержаного у різних клінічних випробуваннях, внаслідок чого за допомогою статистичних методів стає можливим дійти висновків щодо клінічної ефективності досліджуваного методу діагностики, лікування або профілактики. Для проведення метааналізу розроблені спеціальні програмні комплекси, найбільш відомим з яких є RevMan, який використовують експерти Кохранівського співробітництва. Нижче наведені основні риси, характерні для метааналізу:

1) уточнення у протоколі завдань дослідження, гіпотез, що оцінюються (як у галузі медицини, так і біології), огляду матеріалу й методів систематичних оглядів, перш ніж дослідження будуть початі;

2) об'єднання всіх доступних первинних досліджень, включаючи інформаційний пошук, із чітким описом стратегії пошуку й джерел інформації. Вибір досліджень повинен бути заснований на чітких критеріях, обґрунтованих протоколом дослідження;

3) оцінка методологічної якості відібраних досліджень (застосування методів, що знижують помилку). Оцінка відтворюваності досліджень;

4) визначення шуканих результатів досліджень, пояснення відмінностей, які по можливості проводяться за кожним з первинних досліджень;

5) вибір і метод оцінки результатів досліджень, предмет досліджень характеризуються в стандартизованій формі за первинною документацією дослідження з перевіркою помилки вибірки. Процедура повинна бути зрозумілою, відтворюваною і з мінімальною статистичною помилкою;

6) там, де огляд і характеристики даних виконані, метааналіз (кількісний синтез результатів первинних досліджень) вико-

ристовує відповідні, чітко обґрунтовані методи й моделі для того, щоб урахувати при розрахунках усі можливі причини мінливості ознак (наприклад, розбіжності якості досліджень, учасників, дози, тривалості й характеру втручання, визначення і вимірювання результатів);

7) якщо дані мають значний розкид, занадто низьку якість або високу неоднорідність, проведення метааналізу становить певні труднощі;

8) забезпечення зрозумілості результатів систематичного огляду відносно виборів і припущень проводиться на всіх стадіях аналізу. Зокрема, у метааналізі мають знайти відображення:

— вплив якості дослідження/критерії включення;

— правдоподібність і можливий вплив статистичних помилок;

— вплив різних моделей стратегії вибору й забезпечення реконструкції значень пропущених даних у дослідженнях з неповними результатами;

9) чітке подання ключових аспектів усіх етапів аналізу у звіті дослідження, проведення критичної оцінки й забезпечення відтворюваності. Ці дані можуть бути представлені у вигляді спеціальної таблиці, що включає ключові елементи кожного первинного дослідження. Графічне подання результатів також може допомогти в інтерпретації, його потрібно включати там, де це необхідно;

10) методологічні обмеження як первинних досліджень, так і систематичних оглядів мають бути оцінені. Будь-які клінічні або організаційні рекомендації повинні бути практичними та вичерпними і забезпечувати ясність доказів, на підставі яких вони зроблені. Пропозиції необхідних досліджень мають включати клінічні та методологічні вимоги до цих досліджень.

Загалом, початок розвитку клінічної епідеміології, який припав на рубіж 80–90-х років, був обумовлений об'єктивними причинами, і насамперед, широким впровадженням у медичну науку і практику інформаційних технологій. Найбільшої популярності набули роботи групи канад-

ських учених — D. Sackett, B. Haynes, G. Guyatt і P. Tugwell з Університету Мак-Мастера (Онтаріо), які вперше спробували розглянути лікарське мистецтво з погляду суворих наукових принципів [1; 21; 83]. Ці наукові принципи сьогодні впливають на медичну практику й світогляд лікарів у всьому світі. Використовуючи чітку методологію проведення наукових досліджень, клінічна епідеміологія розробляє наукові основи лікарської практики — звід правил для прийняття клінічних рішень. Головний постулат клінічної епідеміології такий: кожне клінічне рішення повинне базуватися на чітко доведених наукових фактах. При цьому найважливіший принцип науково обґрунтованої медичної практики пов'язаний із критичним аналізом інформації: «вага» кожного факту тим більша, що суворіша наукова методика дослідження, у ході якого факт отриманий. «Золотим стандартом» вважаються рандомізовані контрольовані дослідження. Втім, не завжди вони можуть бути застосовані. Їх використання обмежується біоетичними вимогами, а іноді — і технологічними причинами.

Взагалі, сьогодні існує кілька підходів до класифікації рівня доказовості наукових медичних досліджень. Найбільш поширеною є запронована фахівцями Оксфордського центру доказової медицини (CEBM) класифікація, відповідно до якої, у залежності від методології збирання та аналізу даних відповідних досліджень, виділено п'ять рівнів доказовості медичної інформації [84].

Рівень “1a” відповідає систематичним оглядам РКД з високим ступенем гомогенності. Рівень “1a-” відповідає систематичним оглядам гетерогенних результатів РКД. Рівень “1b” відповідає окремим РКД високої якості (з вузьким довірчим інтервалом), а рівень “1b-” — окремим РКД з широким довірчим інтервалом. Рівень “1c” використовують для досліджень будь-якого дизайну з наслідками за правилом «усі або ніхто». Це правило може застосовуватися для досліджень клінічної ефективності методів лікування, які кардинальним

чином змінюють летальність у групах спостереження. Іншими словами, якщо після застосування методу лікування виживають усі (100 %) хворі, тимчасом як до цього частина з них помирала (або виживає менший процент хворих за умови, якщо до цього захворювання мало 100 % летальність), дослідження такого методу одержує індекс “1c”. Прикладом можуть бути результати впровадження пеніциліну у 40-х роках: на той час застосування цього антибіотика давало надзвичайний позитивний ефект, хоча загальна кількість спостережень була не дуже високою.

Індекс “2a” використовують для систематичних оглядів висооякісних (з високою гомогенністю даних) когортних досліджень, які є лонгітудинальними (тривалими у часі) дослідженнями зв'язку певних чинників (наприклад фактори ризику, медичні інтервенції) та клінічними результатами. Останні можуть бути як проспективними (група спостереження формується у теперішньому часі та спостерігається у майбутньому), так і ретроспективними (дослідження архівних матеріалів за певний термін до теперішнього моменту).

Індекс “2a-” відповідає рівню доказовості, при якому йдеться про систематичні огляди менш якісних (з високою гетерогенністю) когортних досліджень.

Рівень “2b” характеризує ізольовані когортні дослідження або РКД низької якості (з недостатнім катанестичним контролем). Рівень “2b-” характеризує окремі когортні дослідження або низькоякісні РКД із широким довірчим інтервалом. Екологічні дослідження та дослідження віддалених наслідків лікування незалежно від їх дизайну належать до рівня “2c”.

Індекс “3a” відповідає рівню доказовості систематичних оглядів досліджень «випадок-контроль» з високим ступенем гомогенності. Відповідно індекс “3a-” застосовують для систематичних оглядів результатів досліджень «випадок-контроль» з більш високою гетерогенністю. Індекс “3b” відповідає доказовості окремих досліджень «випадок-контроль». Спостереження серії ви-

падків, когортні дослідження низької якості та низькоякісні дослідження «випадок-контроль» належать до 4-го рівня доказовості. Нарешті, погляди експертів, що не мають клініко-експериментального підтвердження або ґрунтуються на суто фізіологічних чи біохімічних дослідженнях *in vitro*, відповідають найнижчому, 5-му рівню доказовості (рис. 1.2).

Наріжним каменем доказової медицини є контрольовані клінічні дослідження [21; 22; 84–89]. Головна їх особливість — наявність контролю, групи абсолютно подібної до дослідної за всіма показниками за виключенням того медичного втручання, яке є предметом дослідження. При такому методичному підході всі відмінності між клінічними наслідками будуть пов'язані з різницею у лікуванні. Найбільшу цінність мають рандомізовані сліпі контрольовані клінічні дослідження, в яких для забезпечення максимальної подібності груп порівняння застосовується рандомізація, тобто випадковий розподіл хворих за групами, яка поєднується з процедурою «осліплення». Вперше такий дизайн дослідження був застосований американськими вченими у 1946 р.

У «сліпих» дослідженнях пацієнти не знають, яке лікування вони одержують.

Найбільш високий рівень доказовості має «подвійний сліпий контроль» (медичний персонал також не знає, яке лікування одержує той чи інший пацієнт) та «потрійний сліпий контроль» (організатори дослідження на місцях також не знають, яке лікування застосовується у тому чи іншому випадку, перекодування та встановлення належності хворого до контрольної чи дослідної групи можливе лише у центральній установі, яка організує проведення багатоцентрового дослідження).

Така складна структура випробовування ефективності медичних втручань робить дослідження дорогими і складними, але ця складність — плата за одержання надійних доказів переваг одного методу лікування перед іншим. Проте не завжди є можливим застосувати РКД. Це пов'язано як з методологічними, так і з етичними складнощами. Зокрема, можливість виконання РКД для оцінки ефективності нових хірургічних втручань обмежується вимогами деонтології, а для деяких рідкісних хвороб суттєві труднощі виникають при формуванні вибірки.

Директор Оксфордського центру доказової медицини Пол Глазью представив процес від одержання доказових даних до



Рис. 1.2. Рівні доказовості результатів біомедичних досліджень

їх застосування на практиці у вигляді так званої труби наукових доказів (Evidence Pipe) [89]. Ця схема складається із 7 ступенів (рис. 1.3).

Ступені мають назви, що відображають зміни у відношенні фахівця та його пацієнта під час впровадження нового методу лікування з високим рівнем доказовості: Aware — спеціаліст має бути поінформованим про нові доказові дані (для чого сьогодні вже створено кілька служб для перегляду нових публікацій та інформування лікарів); Assent, тобто прийняття, — впевненість, що зміна практики є необхідною; Applicable — можливість застосування для цільової групи хворих (для цього фахівець має добре розумітися на різних факторах, оцінці співвідношень користі та шкоди для прийняття правильного рішення); Able — здатність провести втручання, тобто наявність певних умов і навичок у спеціалістів; Acted on — реальне застосування обраного втручання; Agreed — згода пацієнта із запропонованим втручанням (лікуванням); Adhered on — прихильність, дотримання рекомендацій пацієнтом, який реально виконує всі необхідні прескрипції (дозування) і має для цього фінансові та інші можливості.

Таким чином, навіть якщо фахівці є поінформованими про найновіші доказові дані, їх знання незначно вплинуть на якість

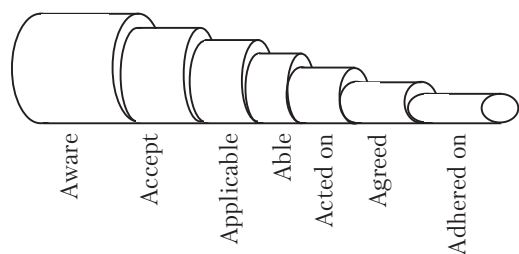


Рис. 1.3. Процес впровадження нових, науково обґрунтованих методів лікування у практику (7 “A”: aware — «інформування»; assent — «прийняття»; applicable — «застосований у практиці»; able — «здатний до дії»; acted on — «діючий»; agreed — «узгоджений»; adhered on — «загальноприйнятий»)

медичної допомоги, якщо не будуть враховані всі наступні етапи процесу.

1.4. Перспективи розвитку клінічної епідеміології

Поряд з вузьким розумінням терміну «клінічна епідеміологія», існує і більш давнє та більш широке трактування [90]. Відповідно до нього, під клінічною епідеміологією розуміють розділ профілактичної медицини, що вивчає закономірності виникнення і поширення різних хвороб — як інфекційних, так і неінфекційних, розробляє заходи з їх профілактики. Втім, бурхливий розвиток біомедичної статистики та впровадження засад доказової медицини призвели до того, що первісне значення цього терміну було забуто. Натомість перед клінічною епідеміологією виникли нові горизонти для розвитку й удосконалення.

Останнім часом в арсеналі фахівців-епідеміологів з'явилися нові потужні методи. Насамперед, це молекулярно-генетичні технології [90; 91]. У 1982 р. Ньютон Мортон запропонував термін «генетична епідеміологія» [91], під якою він розумів науку, що вивчає етіологію та розробляє методи профілактики захворювань у групах родичів або спадкової патології серед населення. Спочатку генетична епідеміологія ґрунтувалася на популяційній генетиці, причому взаємодії чинників довкілля із спадковим фактором уваги майже не приділялося. Втім, останнім часом дослідники одночасно вивчають як спадкові, так і екологічні фактори.

Отже, галузь генетичної епідеміології містить вивчення спадкових факторів, а також чинників довкілля у виникненні захворювань у популяції людей. Ця галузь епідеміології дуже швидко розвивається паралельно з усіма знаннями про геном людини [92–100]. Сьогодні і дослідник-науковець, і клініцист у змозі використовувати знання про генетичну чутливість для того, щоб ідентифікувати індивідумів високого ризику та групи подібних людей. Скринінгові тести й ефективні профілак-

тичні та лікувальні методики, знання спадкових факторів ризику дозволяють забезпечити раннє виявлення і профілактику захворювань.

Генетична епідеміологія заснована на методологічних принципах, запозичених як з генетики, так і з епідеміології [91; 92; 101]. Зокрема, дизайн проведення й інтерпретація досліджень генетичної епідеміології базується на тих же самих принципах, що застосовуються і в інших галузях епідеміології. Наприклад, більшість досліджень у генетичній епідеміології базується на когортних дослідженнях або дослідженнях типу «випадок-контроль». Однак подібні роботи відрізняються від класичних епідеміологічних досліджень тим, що під «впливом» розуміють саме генетичний фактор.

У генетичній медицині так само, як і в інших галузях медичної науки, первинне вивчення етіології захворювання часто містить у собі описову епідеміологію захворювання. Результати описових досліджень надають інформацію про частоту захворювань, її важливість для громадського здоров'я. Подібні знахідки можуть бути підґрунтям для припущень про наявність етіологічної ролі специфічних генетичних факторів, чинників довкілля або інших факторів ризику, подальше вивчення яких допоможе оцінити можливу роль спадковості. Оскільки спадкова схильність призводить до появи кластерів випадків у родинах, епідеміологи можуть проводити дослідження для того, щоб оцінити ступінь концентрації захворювань у певних родинах. Якщо результати подібних досліджень підтверджують гіпотезу про концентрацію захворювань у певних родинах і припускають, що генетичні фактори впливають на виникнення захворювань, то подальші дослідження можуть включати оцінку взаємозв'язку ризику захворювань зі специфічними маркерами, наприклад, з певним геном і продуктами цього гена [102–106].

Таким чином, епідеміологічне дослідження етіології захворювання часто починається із загальних описових досліджень як частини пошуку етіологічних причин; вивчення концентрації захворювань у ро-

динах як частина пошуку доказів наявності такої концентрації або епідеміологічних досліджень, призначених для оцінки ризику, пов'язаного зі специфічними генетичними факторами. Додатковим кроком у дослідженні, що більше базується на застосуванні методології популяційної генетики, ніж епідеміології, є комплексний метод генетичного аналізу, що намагається виявити докази спадкової чутливості до тієї чи іншої патології [92; 106].

Muin Khoury, засновник проекту HuGENet, визначив [107], що генетична епідеміологія «вивчає фундаментальні взаємовідносини між генетичними варіаціями та їх детермінантами із довкіллям, що обумовлюють розвиток захворювання». Основна частина досліджень у галузі генетичної епідеміології виконана у групах ризику, що не дозволяє поширити наукові результати на всю людську популяцію.

Більш прогресивною методологією наукових досліджень вирізняється молекулярна епідеміологія, яка дозволяє, з одного боку, індивідуалізувати діагностичні та терапевтичні алгоритми, а з другого — визначити прогноз епідеміологічної ситуації для великих популяційних груп з використанням молекулярно-біологічних методів.

Список літератури

1. Флетчер Р. Клиническая эпидемиология: основы доказательной медицины / Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер. — М.: МедиаСфера, 1998. — 350 с.
2. Шкарин В. В. Интеграция и дифференциация в эпидемиологии / В. В. Шкарин // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2007. — № 5. — С. 10-15.
3. Ginsburg G. Genomic and personalized medicine: foundations and applications / Geoffrey Ginsburg, Huntington Willard // Transl Res. — 2009. — Vol. 154, N 6. — P. 277-287.
4. Hippocratis Prognosticum: In Quo Omnes Diuini (1596) (Latin Edition). — Kessinger Publishing, LLC., 2009. — 552 p.
5. Lindeklev H. Den greske legeskunsten i Roma / H. Lindeklev // Tidsskr Nor Laege-

foren. — 2005. — Vol. 125, N 13. — P. 1868-1870.

6. *Sajadi M. M.* Ibn Sina and the clinical trial / M. M. Sajadi, D. Mansouri, M. R. Sajadi // *Ann. Intern. Med.* — 2009. — Vol. 150, N 9. — P. 640-643.

7. *Langermann Y. T.* Criticism of authority in the writings of Moses Maimonides and Fakhr Al-Dīn Al-Rāzī / Y. T. Langermann // *Early Sci. Med.* — 2002. — Vol. 7, N 3. — P. 255-275.

8. *Вульф Х. Р.* История развития клинического мышления / Х. Р. Вульф // *Международный журнал мед. практики.* — 2005. — № 1. — С. 12-20.

9. *Черкасский Б. Л.* Клиническая эпидемиология и доказательная медицина / Б. Л. Черкасский // *Эпидемиология и инфекционные болезни.* — 2006. — № 3. — С. 5-8.

10. *Гринхальт Т.* Основы доказательной медицины / Т. Гринхальт ; пер. с англ. — 3-е изд. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 288 с.

11. *Пирогов Н. И.* Вопросы жизни. Дневник старого врача / Н. И. Пирогов. — К. : Издание Пироговского т-ва, 1910. — 352 с.

12. *Фарбер В. Б.* Сергей Петрович Боткин (1832—1889) / В. Б. Фарбер. — Л., 1948. — 131 с.

13. *Тикотин М. А.* Г. А. Захарьин и его клинко-теоретические взгляды / М. А. Тикотин // *Ученые записки 1-го Ленинградского медицинского института.* — 1955. — № 2. — С. 301-312.

14. *Гукасян А. Г.* Остроумов А. А. и его клинко-теоретические взгляды. — М. : Медгиз, 1950. — 152 с.

15. *Выдающиеся имена в мировой медицине.* Great Names in the World History / под ред. проф. А. А. Грандо. — К. : РИА «Триумф», 2002. — 495 с.

16. *Sistemas de prognostico em cuidados intensivos: principios gerais, desenvolvimento e aplicacoes clinicas* / A. V. Carneiro, M. Ivo, J. Girão [et al.] // *Acta Med. Port.* — 1993. — Vol. 6, N 2. — P. 87-93.

17. *Williams M.* Does clinical epidemiology have a role in clinical practice? / M. Williams // *Intern. Med. J.* — 2005. — Vol. 35, N 2. — P. 104.

18. *Miettinen O. S.* Epidemiology: quo vadis? / O. S. Miettinen // *Eur. J. Epidemiol.* — 2004. — Vol. 19, N 8. — P. 713-718.

19. *Клинические испытания лекарств* / под ред. В. И. Мальцева, Т. К. Ефимцевой, Ю. Б. Белоусова, В. Н. Коваленко. — К. : МОРИОН, 2002. — 352 с.

20. *Уваренко А. Р.* Доказова медицина у спектрі наукової медичної інформації та галузевої інноваційної політики / А. Р. Уваренко. — Житомир : Полісся, 2005. — 188 с.

21. *Епідеміологічні методи вивчення неінфекційних захворювань* : навч. посібник / В. М. Лехан, Ю. В. Вороненко, О. П. Максименко [та ін.]. — Дніпропетровськ : АРТ-ПРЕС, 2004. — 184 с.

22. *Воробьев К. П.* Доказательная медицина — новая методология медицинской практики. Часть I. Мотивации врача и исследователя при изучении доказательной медицины / К. П. Воробьев // *Український медичний альманах.* — 2004. — № 5. — С. 41-45.

23. *Воробьев К. П.* Доказательная медицина — новая методология медицинской практики. Часть II. Сущность доказательной медицины / К. П. Воробьев // *Український медичний альманах.* — 2004. — № 6. — С. 142-146.

24. *Воробьев К. П.* Доказательная медицина — новая методология медицинской практики. Часть III. Сущность клинической эпидемиологии / К. П. Воробьев // *Український медичний альманах.* — 2005. — № 2. — С. 32-36.

25. *Власов В. В.* Эпидемиология / В. В. Власов. — М. : ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 464 с.

26. *Скакун М. П.* Підготовка і введення основ доказової медицини в навчальний процес вищих медичних закладів освіти // *Доказова медицина у спектрі наукової медичної інформації та інноваційної політики* : наук.-практ. конф. — Тернопіль, 12-13 травня 2005 р. : матер. конф. — Тернопіль : Укрмедкнига, 2005. — С. 53-55.

27. *Беляков В. Д.* Эпидемический процесс (теория и метод изучения) / В. Д. Беляков. — Л. : Медицина, 1964. — 238 с.

28. *Андрейчин М. А.* Епідеміологія : підручник / М. А. Андрейчин, В. С. Копча. — Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. — 382 с.

29. Покровский В. И. Эпидемиология – русская наука / В. И. Покровский // Здравоохранение Российской Федерации. – 1993. – № 33. – С. 5.
30. Покровский В. И. Специфика эпидемиологии инфекционных и неинфекционных болезней / Владимир Покровский, Борис Черкасский // Терапевтический архив. – 1994. – № 11. – С. 4-6.
31. *The future of epidemiology* / R. B. Ness, E. B. Andrews, J. A. Gaudino Jr. [et al.] // Acad. Med. – 2009. – Vol. 84, N 11. – P. 1631-1637.
32. Raoult D. Recent and future developments in the epidemiology of the infectious diseases / D. Raoult // Eur. J. Epidemiol. – 2009. – Vol. 24, N 8. – P. 393-395.
33. *The training of epidemiologists and diversity in epidemiology : findings from the 2006 Congress of Epidemiology survey* / O. D. Carter-Pokras, R. Spirtas, L. Bethune [et al.] // Ann. Epidemiol. – 2009. – Vol. 19, N 4. – P. 268-275.
34. Reiber C. Evolution for epidemiologists / C. Reiber // Ann. Epidemiol. – 2009. – Vol. 19, N 4. – P. 276-279.
35. Hogue C. J. The triangular future of epidemiology / C. J. Hogue // Ann. Epidemiol. – 2008. – Vol. 18, N 11. – P. 862-864.
36. Schottenfeld D. Positioning epidemiology in a changing environment over the next 25 years : introduction / D. Schottenfeld // Ann. Epidemiol. – 2008. – Vol. 18, N 11. – P. 868-870.
37. *Global epidemiology and public health in the 21st century. Applications of new technology* / R. E. Laporte, E. Barinas, Y. F. Chang, I. Libman // Ann. Epidemiol. – 1996. – Vol. 6, N 2. – P. 162-167.
38. Thacker S. B. Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology and public health at CDC / S. B. Thacker // MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. – 2006. – Vol. 55, Suppl. 2. – P. 3-4.
39. Krieger N. Epidemiology and social sciences: towards a critical reengagement in the 21st century // Epidemiol Rev. – 2000. Vol. 22, N 1. – P. 155-163.
40. *Primary health care, health policies and planning: lessons for the future* / S. Siddiqi, A. Kielmann, S. Watts, B. Sabri // East. Mediterr. Health J. – 2008. – Vol. 14, Suppl. 1. – P. 42-56.
41. Беляков В. Д. Эпидемиология : учебник / В. Д. Беляков, Р. Х. Яфаев. – М. : Медицина, 1989. – 416 с.
42. Беляков В. Д. Введение в эпидемиологию инфекционных и неинфекционных заболеваний человека / В. Д. Беляков, Т. А. Семенов, М. Х. Шрага. – М. : Медицина, 2001. – 264 с.
43. Beaglehole R. Basic epidemiology / R. Beaglehole, R. Bonita, T. Kjellstrom. – Geneva : WHO, 1993. – 175 p.
44. Smith G. Davey Epidemiology – is it time to call it a day? / G. Davey Smith, S. Ebrahim // Int. J. Epidemiol. – 2001. – Vol. 30, N 1. – P. 1-11.
45. *Клинические испытания лекарств* / под ред. В. И. Мальцева, Т. К. Ефимцевой, Ю. Б. Белоусова, В. Н. Коваленко. – К. : МОРИОН, 2002. – 352 с.
46. *Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Interpretation of clinical trial results* // Fertil Steril. – 2008. – Vol. 90, Suppl. 5. – P. 114-120.
47. Власов В. В. Эпидемиология в современной России / В. В. Власов // Международный журнал медицинской практики. – 2001. – № 2. – С. 27-31.
48. Залиская О. Н. Доказательная фармация: теория и практика / Ольга Залиская, Богдан Парновский // Фармацевтический журнал. – 2007. – № 6. – С. 32-35.
49. Bastian H. Learning from evidence based mistakes / H. Bastian // BMJ. – 2004. – Vol. 329. – P. 1053-1055.
50. Weinbrenner S. Leitlinien Grundlage neuer, zukunftsweisender Versorgungsformen / S. Weinbrenner, G. Ollenschläger // Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. – 2008. – Bd. 51, N 5. – S. 558-564.
51. Brennecke R. Entwicklung von Standards für das Qualitätsmanagement in der interventionellen Kardiologie / R. Brennecke // Herz. – 1996. – Vol. 21, N 5. – P. 304-313.
52. Mather L. E. Cardiotoxicity with modern local anaesthetics: is there a safer choice? / L. E. Mather, D. H. Chang // Drugs. – 2001. – Vol. 61, N 3. – P. 333-342.

53. *Evidence-based medicine: how to practice and teach EBM* / D. L. Sackett, S. E. Straus, W. S. Richardson [et al.]. — 2 ed. — Edinburgh ; N. Y. : Churchill Livingstone, 2000. — 261 p.
54. *O’Gorman M. R.* CD4 T cell measurements in the management of antiretroviral therapy -A review with an emphasis on pediatric HIV-infected patients / M. R. O’Gorman, L. S. Zijenah // *Cytometry B. Clin. Cytom.* — 2008. — Vol. 74, Suppl. 1. — P. 19-26.
55. *Humbert M.* The role of neutralizing antibodies in HIV infection / M. Humbert, U. Dietrich // *AIDS Rev.* — 2006. — Vol. 8, N 2. — P. 51-59.
56. *Appraising qualitative research for inclusion in systematic reviews: a quantitative and qualitative comparison of three methods* / M. Dixon-Woods, A. J. Sutton, R. L. Shaw [et al.] // *Journal of Health Service Research and Policy.* — 2007. — Vol. 12. — P. 42-47.
57. *Mitchell P. H.* Quality Health Outcomes Model / P. H. Mitchell, S. Ferketich, B. M. Jennings // *Journal of Nursing Scholarship.* — 1998. — Vol. 30, N 1. — P. 43-46.
58. *Nobre M. R. C.* Clinical Epidemiology — bridging the gap between the clinical practice and the medical research / M. R. C. Nobre // *São Paulo Medical Journal* / R.P.M. — 1995. — Vol. 113, N 2. — P. 1.
59. *Скакун М. П.* Клінічна епідеміологія як важливий фактор реформування вищої медичної освіти в Україні / М. П. Скакун // *Медична освіта.* — 2005. — № 4. — С. 8-11.
60. *Ogg G. A.* Practical Guide to Quality Management in Clinical Trial Research / G. A. Ogg. — 1 ed. — London : Informa Healthcare, 2005. — 232 p.
61. *Trotter G.* Culture, ritual, and errors of repudiation: some implications for the assessment of alternative medical traditions / G. Trotter // *Altern. Ther. Health Med.* — 2000. — Vol. 6, N 4. — P. 62-68.
62. *Hufford D. J.* Culturally grounded review of research assumptions / D. J. Hufford // *Altern. Ther. Health Med.* — 1996. — Vol. 2, N 4. — P. 47-53.
63. *Dwyer J. M.* Good medicine and bad medicine: science to promote the convergence of “alternative” and orthodox medicine / J. M. Dwyer // *Med. J. Aust.* — 2004. — Vol. 180, N 12. — P. 647-648.
64. *Бобров О. Е.* Врачебная ошибка или профессиональное невежество? Мифы, иллюзии, реальность / О. Е. Бобров // *Лекарь.* — 2008. — № 1/2. — С. 6-12.
65. *Cochrane A. L.* Effectiveness and Efficiency: Random Reflections on Health Services (Paperback) / A. L. Cochrane. — Royal Society of Medicine Press, 1999. — 120 p.
66. *Freshman B.* Collaboration Across the Disciplines in Health Care / Brenda Freshman, Louis Rubino, Yolanda (Linda) Reid Chassiakos. — 1ed. — Jones & Bartlett Publishers, 2009. — 325 p.
67. *Winkelstein W. Jr.* The remarkable Archie: origins of the Cochrane Collaboration / W. Jr. Winkelstein // *Epidemiology.* — 2009. — Vol. 20, N 5. — P. 779.
68. *Shah H. M.* Archie Cochrane and his vision for evidence-based medicine / H. M. Shah, K. C. Chung // *Plast Reconstr Surg.* — 2009. — Vol. 124, N 3. — P. 982-988.
69. *Hont G.* Archie Cochrane-mannen bakom evidensbaserad medicin / G. Hont // *Lakartidningen.* — 2008. — Vol. 105, N 16. — P. 1215-1217.
70. *Levin A.* The Cochrane Collaboration / A. Levin // *Ann. Intern. Med.* — 2001. — Vol. 135, N 4. — P. 309-312.
71. *Davies P.* The Campbell Collaboration. Does for public policy what Cochrane does for health / P. Davies, R. Boruch // *BMJ.* — 2001. — Vol. 323, N 7308. — P. 294-295.
72. *Kleinpell R.* Evidence-based review and discussion points / R. Kleinpell // *Am. J. Crit. Care.* — 2010. — Vol. 19, N 1. — P. 36-37.
73. *Systematic Reviews in Health Care: Meta-Analysis in Context* / Matthias Egger (Editor), George Davey Smith (Editor), Douglas Altman // *BMJ Books.* — 2 ed. — London, 2001. — 512 p.
74. *Mason P. R.* Plagiarism in scientific publications / P. R. Mason // *J. Infect. Dev. Ctries.* — 2009. — Vol. 3, N 1. — P. 1-4.
75. *Couzin-Frankel J.* Scientific publishing. Repetition is not duplication / J. Couzin-Frankel // *Science.* — 2009. — Vol. 324, N 5930. — P. 1006.
76. *Chee Khoon Chan.* Choosing health, constrained choices / Chee Khoon Chan

// Glob. Health Promot. — 2009. — Vol. 16, N 4. — P. 54-57.

77. *Посібник для розробників клінічних рекомендацій / медичних стандартів* / А. М. Морозов, Д. В. Варивончик, Н. Г. Гойда [та ін.]. — К., 2006. — 166 с.

78. *Bennett D. A.* Stratification for exploring heterogeneity in systematic reviews / D. A. Bennett, J. R. Emberson // *Evid. Based. Med.* — 2009. — Vol. 14, N 6. — P. 162-164.

79. *A comparison of results of meta-analyses of randomized control trials and recommendations of clinical experts. Treatments for myocardial infarction* / E. M. Antman, J. Lau, B. Kupelnick [et al.] // *JAMA.* — 1992. — Vol. 268, N 2. — P. 240-248.

80. *Delgado-Rodríguez M.* Systematic reviews of meta-analyses: applications and limitations / M. Delgado-Rodríguez // *J. Epidemiol. Community Health.* — 2006. — Vol. 60, N 2. — P. 90-92.

81. *Biondi-Zoccai G. G.* Systematic reviews and meta-analyses “For Dummies” / G. G. Biondi-Zoccai, A. Abbate, I. Sheiban // *EuroIntervention.* — 2009. — Vol. 5, N 3. — P. 289-291.

82. *Yuan Y.* Systematic reviews: the good, the bad, and the ugly / Y. Yuan, R. H. Hunt // *Am. J. Gastroenterol.* — 2009. — Vol. 104, N 5. — P. 1086-1092.

83. *Sackett D. L.* The architecture of diagnostic research / D. L. Sackett, R. B. Haynes // *BMJ.* — 2002. — Vol. 324, N 7336. — P. 539-541.

84. *Phillips B.* Oxford Centre for Evidence-based Medicine — Levels of Evidence (March 2009) / Bob Phillips, Chris Ball, Dave Sackett // *Since.* — 1998. Updated by Jeremy Howick. — 2009. <http://www.cebm.net/index.aspx?o=1025>

85. *Richards D.* Critically appraising randomised trials / D. Richards // *Evid. Based Dent.* — 2009. — Vol. 10, N 3. — P. 88-90.

86. *Kernick D. P.* Evidence based medicine: does it make a difference? Management of complex systems needs new approaches / D. P. Kernick // *BMJ.* — 2005. — Vol. 330, N 7482. — P. 92-93.

87. *Reyna V. F.* Theories of medical decision making and health: an evidence-based approach / V. F. Reyna // *Med. Decis. Making.* — 2008. — Vol. 28, N 6. — P. 829-833.

88. *Miles A.* Medicine and evidence : knowledge and action in clinical practice / A. Miles, M. Loughlin, A. Polychronis // *J. Eval. Clin. Pract.* — 2007. — Vol. 13, N 4. — P. 481-503.

89. *Glasziou P.* Evidence based medicine: does it make a difference? Make it evidence informed practice with a little wisdom / P. Glasziou // *BMJ.* — 2005. — Vol. 330, N 7482. — P. 9.

90. *Weiss W.* Clinical epidemiology / W. Weiss // *Arch. Environ. Health.* — 1970. — Vol. 20, N 1. — P. 5-6.

91. *Newton E.* Outline of Genetic Epidemiology / E. Newton, S. Morton, A. G. Karger. — Geneva, 1982. — 254 p.

92. *Khoury M. J.* Fundamentals of genetic epidemiology // M. J. Khoury, T. H. Beaty, B. H. Cohen. — Oxford University Press, 1993. — 150 p.

93. *Thomas D. C.* Statistical Methods in Genetic Epidemiology // D. C. Thomas. — Oxford University Press, 2004. — 435 p.

94. *Laberge C. M.* Rationale for an integrated approach to genetic epidemiology / C. M. Laberge, B. M. Knoppers // *Bioethics.* — 1992. — Vol. 6, N 4. — P. 317-330.

95. *Morton N. E.* Genetic epidemiology / N. E. Morton // *Ann. Hum. Genet.* — 1997. — Vol. 61 (Pt. 1). — P. 1-13.

96. *Recent advances in genetic epidemiology.* Special issue in honor of Professor Newton E. Morton's 70th birthday // *Hum Hered.* — 2000. — Vol. 50, N 1. — P. 1-90.

97. *McKusick V. A.* Advances in medical genetics in the past 30 years / V. A. McKusick // *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis.* — 1991. — Vol. 69. — P. 1-18.

98. *Ott J.* Molecular genetics and genetic epidemiology of cardiovascular disease and diabetes. Introductory remarks: genetic models and statistical approaches / J. Ott // *Ann. Med.* — 1992. — Vol. 24, N 5. — P. 375-377.

99. Dekker M. C. Prospects of genetic epidemiology in the 21st century / M. C. Dekker, C. M. van Duijn // Eur. J. Epidemiol. — 2003. — Vol. 18, N 7. — P. 607-616.
100. Горбунова В. Н. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний / В. Н. Горбунова, В. С. Баранов. — СПб. : Спецлитература, 1997. — 286 с.
101. Adány R. Genetic epidemiology literature in Europe : an overview / R. Adány, Z. Pocsai // Eur. J. Public. Health. — 2007. — Vol. 17, Suppl. 1. — P. 29-32.
102. Park S. K. Risk assessment and pharmacogenetics in molecular and genomic epidemiology / S. K. Park, J. Y. Choi // J. Prev. Med. Public. Health. — 2009. — Vol. 42, N 6. — P. 371-376.
103. Two-stage joint selection method to identify candidate markers from genome-wide association studies / Z. Wu, C. Aporntewan, D. H. Ballard [et al.] // BMC Proc. — 2009. — Vol. 15. — P. 3.
104. Au W. W. Biomarkers in population studies: environmental mutagenesis and risk for cancer / W. W. Au, M. Ruchirawat // Rev. Environ. Health. — 2009. — Vol. 24, N 2. — P. 117-127.
105. Wu Z. Statistical power of model selection strategies for genome-wide association studies / Z. Wu, H. Zhao // PLoS Genet. — 2009. — Vol. 5, N 7. — e1000582.
106. Mackey D. A. The 'I' in personalized genetics: 2008 Ian Constable lecture / D. A. Mackey // Clin. Experiment. Ophthalmol. 2009. — Vol. 37, N 5. — P. 434-443.
107. On the synthesis and interpretation of consistent but weak gene-disease associations in the era of genome-wide association studies / M. J. Khoury, J. Little, M. Gwinn, J. P. Ioannidis // Int. J. Epidemiol. — 2007. — Vol. 36, N 2. — P. 439-445.

Розділ 2. Значення клінічної епідеміології для практичної медицини

THE IMPORTANCE OF CLINICAL EPIDEMIOLOGY FOR PRACTICAL MEDICINE

The attention of readers is focused on the role of clinical epidemiology in the verification of the validity of diagnostic criteria during various diseases, the assessment of the effectiveness of conducted treatment. There was made an accent on the significance of clinical epidemiology in the researches of prevalence of socially important diseases and the development of effective preventive measures.

2.1. Практичне значення впровадження принципів клінічної епідеміології

Вивчення та використання інструментів клінічної епідеміології у нашій країні стримується як об'єктивними, так і суб'єктивними факторами [1; 2]. Крім недостатньої матеріально-технічної бази, браку сучасного програмного забезпечення та кваліфікованих фахівців з біостатистики, на успіх впровадження клінічної епідеміології впливає також ставлення лікарів-практиків, для яких використання засад цієї дисципліни досі є лише додатковою затратою зусиль і часу. Втім, дотримання принципів доказової медицини та клінічної епідеміології має суттєві переваги над традиційним, емпіричним підходом. По-перше, це дає змогу поліпшити якість медичної допомоги, а для лікаря є джерелом впевненості при пошуку діагностичного або лікувального алгоритму. По-друге, зростає ефективність сприйняття медичної інформації, лікар має змогу, виходячи з фундаментальних принципів клінічної епідеміології, оцінити якість публікацій, визначити, які джерела інформації заслуговують на довіру і можуть бути використаними для підвищення ефективності та безпечності лікування. По-третє, використання принципів клінічної епідеміології лікарями різного профілю дозволяє забезпечити безперервність процесу лікування, заснованого на достовірних результатах клінічних

випробувань. Нарешті, клінічна епідеміологія дозволяє клініцисту оцінити роль інших факторів (біологічних, фізичних, соціальних), здатних вплинути на результати лікування [3].

У зв'язку з широким впровадженням страхової моделі надання медичної допомоги у країнах Заходу питанням розвитку клінічної епідеміології приділяється надзвичайно велика увага. Сьогодні вартість кваліфікованої та спеціалізованої медичної допомоги досягла такого рівня, що навіть заможні люди не в змозі оплатити всі бажані види послуг. Тим же часом, використання нових клінічних методів зовсім не обов'язково супроводжується адекватними позитивними зрушеннями у клінічних наслідках. Отже, для хворого корисні далеко не всі загальноприйняті чи дуже дорогі види лікування. Звідси виникла впевненість у тому, що медична допомога повинна ґрунтуватися на результатах найбільш доказових досліджень і оцінюватися з урахуванням фінансових затрат, які суспільство може собі дозволити. Крім того, конкретних пацієнтів усе частіше розглядають як складову частину великих груп аналогічних хворих. Це допомагає не тільки робити більш точні індивідуальні прогнози, але й вибирати найбільш доцільні шляхи використання обмежених фінансових ресурсів для оптимальної допомоги, причому якомога більший кількості людей.

Отже, головною метою клінічної епідеміології слід вважати активне запрова-

дження методів клінічного спостереження і аналізу даних, які забезпечують прийняття правильних рішень у лікуванні хворих і в економіці охорони здоров'я [2].

2.2. Методологія збирання даних у практиці клінічної епідеміології. Основи біомедичної статистики

Запорукою успішності будь-якого епідеміологічного дослідження є дотримання певних принципів, до яких, насамперед, належить методологічна коректність. Це стосується як етапу збирання даних, так і створення інформаційних масивів (баз даних), управління ними, аналізу і синтезу одержаної інформації [3–6].

Дані епідеміологічних досліджень зазвичай одержують методом інтерв'ю, поштового або телефонного опитування, із використанням анкет, які заповнює особисто респондент. Альтернативою є викопювання даних із медичної документації або електронних баз даних, при цьому нерідко виникає потреба класифікації та категоризації даних [7]. Деякі змінні шкали найменувань, які мають лише обмежений діапазон дійсних значень, можуть підлягати попередній категоризації щодо призначення певних кодів для відповідних значень або діапазонів. Якщо кодуванню підлягають усі ознаки, що досліджуються, це значно полегшує комп'ютерну обробку даних. Якщо анкета містить відкриті питання, відповіді на які попередньо не категоризуються, існує можливість кодування на етапі остаточної обробки інформації. Додатково максимально зменшувати кількість кодуючих і декодуєчих операцій, що використовуються на етапах аналізу одержаних результатів. Наприклад, інформацію про вік пацієнта краще надавати як дату народження, яка легко перераховується комп'ютером в інші значення.

Сучасні алгоритми аналізу інформаційних масивів дозволяють виключити введення некоректних значень ще на етапі введення. Наприклад, якщо стаття хворого кодується як бінарна величина, яка може порівнювати лише 0 або 1 (як варіанти: 1 або

2 тощо), то будь-яке інше значення ігноруватиметься машиною, а оператор одержить повідомлення про некоректне введення даних. Іноді для невідомих значень пропонуються спеціальні значення — наприклад «-1», «99» або «999». Для запобігання помилкам при введенні даних часто використовують «подвійне введення», коли дані вводять у базу два різних оператори [8].

Для практики клінічної епідеміології важливим є визначення показників результатів досліджень, що використовуються для подальшого статистичного аналізу. Результати досліджень можуть бути розділені на три групи залежно від типу даних, на підставі яких зроблені висновки. До першої групи належать результати, засновані на парних (бінарних) даних (альтернативні наслідки — особи, що вижили/померли, захворіли/не захворіли). До другої групи належать результати, засновані на кількісних даних¹, що динамічно змінюються (наприклад, артеріальний тиск). Третя група поєднує категоріальні (порядкові, рангові) дані, наприклад, ступінь тяжкості захворювання. Більшість результатів медичних досліджень є порівнюваними, зокрема порівнюваними є дані перших двох груп. Проте непорівнювані парні дані також можуть бути предметом обговорення і досить широко використовуються в епідеміологічних дослідженнях.

Для розв'язання тих самих завдань можуть використовуватися різні математичні прийоми і, з другого боку, ті самі математичні методи можуть бути використані для розв'язання різних завдань. Крім того, вибір адекватних математичних методів визначається, як мінімум, ще чотирма умовами: типом одержаних даних, величиною вибірки, кількістю реєстрованих змінних, наявністю чи відсутністю динамічної складової. А оскільки дані, як правило, розділяються на ті, що впливають (фактори-Х), і вихідні (показники-У), то кількість варіантів математичної обробки може збільшуватися до кількох сотень [9–14].

Аналіз даних слід розпочинати з ретельної експертизи розподілу змінних. Більшість сучасних статистичних пакетів до-

¹ Continuous data.

звояють одержати повний звіт з описовою статистикою безпосередньо після завершення введення, втім, перед формуванням такого звіту необхідно перевірити точність введених даних і за необхідності відредагувати їх [8; 14].

Важливою проблемою також є наявність пропущених або неповних відомостей у базі даних. У сучасній біостатистиці існує чимало інструментів, які дозволяють заповнити ці прогалини, однак аналіз та інтерпретація таких результатів є досить складними, що обмежує використання подібних методів у практиці [8; 10; 14].

2.2.1. Вплив типів даних

При виборі адекватного математичного методу доцільно розмежовувати будь-які змінні на чотири типи шкал: номінальну (найменувань), бінарну (дихотомічну), рангову (порядкову) і відносин (власне кількісні дані) [15].

У номінальній шкалі ознаки розрізняються тільки найменуваннями (наприклад, стать, соціальне походження, професія і т. д.). Ця шкала використовується лише для того, щоб зарахувати індивідуум, об'єкт до певного класу, привласнити йому певну мітку. Якщо описані заздалегідь можливі класи та правила зарахування об'єкта до них, то шкала називається категоризованою, у противному разі — некатегоризованою. Прикладом категоризованих номінальних змінних є спеціальність, некатегоризованих — ім'я, прізвище, місце народження. У теорії вимірів номінальні змінні вважаються найпростішими і «найбіднішими», з ними можливі тільки порівняння на предмет збігу [8; 15; 16].

Якщо номінальна ознака може набувати тільки два значення, то такі ознаки називають двійковими, або альтернативними, або бінарними, або булевими, або дихотомічними. Наприклад, до таких ознак належить стать досліджуваних, ставлення до куріння або вживання алкоголю і наркотиків, володіння якимись навичками, наявність діагностично значущої ознаки тощо. Найчастіше ці ознаки кодуються словами «так»/«ні» або цифрами 0/1 [17].

Шкала рангів характеризує порядок взаєморозташування чи взаємозначущості ознак. У ранговій шкалі, наприклад, вимірюються групи здоров'я, експертні оцінки, виводяться бали значущості ознаки. У ній можливе введення співвідношень типу «менше», «гірше». Арифметичні операції для цих змінних не мають сенсу через достатню суб'єктивність і неформалізованість процесу ранжирування, хоча в деяких випадках можливий розрахунок середніх арифметичних (наприклад, середнього бала успішності студента) [8; 15; 18].

До шкали співвідношень належать кількісні дані, що реєструються у будь-яких одиницях виміру і характеризують або стан об'єкта, або величину впливу. Маса, зріст, артеріальний тиск, концентрація біологічно активної речовини, кількість тих чи інших змін, вимірюваних при дослідженні, — приклади даних, що належать до цієї шкали. У шкалі співвідношень можна виконувати всі чотири арифметичні дії, з ними можна робити перетворення (наприклад, логарифмування) без втрати значущості результатів [8].

При спільному розгляді значень, обмірюваних у різних шкалах, з ними можна виконувати різні перетворення, що переводять усі дані в одну шкалу. Для переходу від однієї шкали до іншої необхідно вийти за межі понять (класифікації, оцінки виміру), прийнятих у вихідній шкалі, і, використовуючи деяке додаткове знання, по-іншому оцінити, виміряти, кваліфікувати той самий об'єкт. Перехід від «більш складної» шкали до «менш складної» можна виконати завжди, але часто це призводить до значної втрати інформації [8; 18].

Найпростіший спосіб переходу до єдиної шкали вимірів — зведення будь-яких даних до двійкових змінних (дихотомізація). В основі цього методу лежить уведення відповідності кожної вихідної змінної іншим змінним, що набувають тільки два значення (наприклад, 0 і 1). Для цього необхідно застосувати певний критерій, що дозволяє зарахувати значення характеристики вихідного об'єкта, обмірюваної в більш високій шкалі (наприклад, артеріальний тиск), до того чи іншого бінарного

класу (має артеріальну гіпертензію чи ні) [8].

Перехід від шкали співвідношень до рангової шкали найчастіше здійснюється у процесі ранжирування змінних. При цьому змінні вишикуються у певному порядку — зменшення або зростання, і кожній змінній привласнюється порядковий номер — ранг. У деяких задачах корисно переходити від змінної шкали відношень до рангових змінних шляхом розбивання вихідного масиву на обмежену сукупність класів (угруповання) з подальшим їх ранжируванням за якоюсь змістовною ознакою («групи здоров'я»). Угруповання можна здійснювати або за допомогою формальних математичних прийомів або використовувати для цього змістовні експертні рекомендації.

Метод кількісного оцифровування номінальних і рангових змінних прямо протилежний цим методам. У ньому всі змінні піднімаються, підтягуються до більш високого рівня шляхом присвоєння їхнім найменуванням (рангам) кількісних значень. Такий перехід не завжди коректний і досить складний. Найчастіше для цього використовуються методи експертного оцінювання або зіставлення «за аналогією».

Кожному типу шкали відповідає своя статистична техніка. Так, для змінних, вимірюваних у номінальній шкалі, можна використовувати χ^2 — критерій для перевірки їхнього взаємозв'язку за таблицями спряженості. Для бінарних даних використовується процентний аналіз. Для них розроблені різноманітні математичні методи у всіх розділах математичної статистики, аж до досить складних методів багатовимірного кількісного аналізу. Порядковій шкалі відповідають методи, що ґрунтуються на використанні рангів (рангова кореляція, непараметричні критерії для перевірки гіпотез тощо). Для шкали співвідношень може бути використаний весь арсенал статистичних методів [18].

Багато статистичних процедур розроблено для випадків, коли частина змінних виміряна в одній шкалі, а частина — в іншій. Типовим прикладом є дисперсійний

аналіз, у якому фактори вимірюються в номінальній (чи ранговій) шкалі, а відповідні їхнім комбінаціям наслідки — у шкалі співвідношень. Статистичні критерії, як правило, використовуються для об'єктів, одна з ознак яких виміряна у бінарній шкалі («дослід-контроль»), а інші — у шкалі співвідношень чи ранговій шкалі. Схема застосування того чи іншого методу математичної обробки залежно від типів вихідних даних наведена у табл. 2.1.

2.2.2. Залежність від завдань дослідження

Діапазон завдань, що розв'язуються у клінічній епідеміології, є вельми широким. Однак при відповідному укрупненні та формалізації він може бути зведений до деякої доступної для огляду сукупності. У принципі, при класифікації за методичними підходами, які використовуються, усі дослідники розв'язують аналогічні завдання: розраховують групові характеристики (середні та помилки), установлюють значущість і достовірність розбіжностей між вибірками, виявляють шукані закономірності, описують зв'язки та залежності, розраховують прогнози змін, розробляють рекомендації тощо. Для розв'язання кожного з цих завдань можна використовувати певну сукупність математичних методів і процедур [8; 16].

Взаємозв'язок факторів, що впливають, може оцінюватися за допомогою кореляційного, регресійного і кластерного аналізу. Для виявлення ймовірності впливу того чи іншого фактора (чи його градацій) на показники здоров'я звичайно використовуються статистичні критерії чи дисперсійний аналіз розходження. Взаємне зіставлення (ранжирування) ступеня впливу факторів на показники здоров'я (значущість факторів) або оцінку інформативності показників здоров'я можна виконувати за результатами кореляційного, регресійного, дисперсійного чи дискримінантного аналізу [8; 19].

Кількісна оцінка ступеня впливу окремого фактора (його частки) серед усієї безлічі факторів, що впливають, може бути

Алгоритм використання методів математичної обробки різнотипових даних [8]

Фактори (x)	Показники (y)			
	Шкали найменувань	Бінарні	Рангові	Шкали співвідношень
Шкали найменувань	Процентний аналіз; таблиці спряженості	Процентний аналіз; таблиці спряженості	Рангові критерії порівняння; таблиці спряженості	Параметричні критерії порівняння; дисперсійний аналіз; методи багатовимірної статистики для y (кластерний, дискримінантний, факторний аналіз)
Бінарні	Процентний аналіз; таблиці спряженості	Процентний аналіз; чотирипільні таблиці; оцінка асоціації	Рангові критерії порівняння; таблиці спряженості; дисперсійний аналіз	Параметричні критерії порівняння; бісеріальна кореляція; дисперсійний аналіз; методи багатовимірної статистики для y
Порядкові	Процентний аналіз; таблиці спряженості	Процентний аналіз; таблиці спряженості	Таблиці спряженості; рангова кореляція (r_s); дисперсійний аналіз	Параметричні критерії порівняння; рангова кореляція; дисперсійний аналіз; методи багатовимірної статистики для y
Шкали співвідношень	Параметричні критерії порівняння; кластерний аналіз для x	Процентний аналіз; параметричні критерії порівняння; дискримінантний аналіз для x ; кластерний аналіз для x	Параметричні критерії порівняння; регресійний аналіз; дискримінантний аналіз для x ; кластерний аналіз для x	Парний і множинний кореляційний аналіз для x і y , однофакторний і багатовимірний (лінійний і нелінійний) регресійний аналіз для x і y ; методи багатовимірної статистики для x і y

виконана за допомогою дисперсійного аналізу. Для такої ж оцінки, але в обмеженій дослідженням сукупності факторів можуть застосовуватися, крім дисперсійного аналізу, методи кореляційного (парного і, особливо, множинного) і регресійного аналізу (через b -коефіцієнти). Залежність показників здоров'я від факторів середовища описують за допомогою однофакторного і багатовимірного регресійного аналізу. Для розрахунку прогнозу того чи іншого результату (наприклад, виникнення хвороби або її рецидиву) використовуються методи дискримінантного та регресійного аналізу. Розрахунок прогнозу зміни показників стану здоров'я при зміні рівня чи часу дії факторів виконується за допомогою регресійного чи динамічного аналізу [8–13; 19; 20].

Ступінь адекватності різних математичних методик, що застосовуються для розв'язання однієї і тієї ж задачі буде, природно, різним. Для кожного з цих напрямків, проте, можна підібрати обмежену кількість коректних і ефективних математичних методів і підходів [8–13; 20; 21].

Перелік адекватних математичних методів для основних напрямків медико-екологічних досліджень представлений у табл. 2.2.

Детальний опис зазначених статистичних методів міститься у численних виданнях з біомедичної статистики і біометрики [8–13; 19–22], втім, доцільним є обговорення деяких специфічних для клінічної епідеміології методів статистичної обробки. Це, насамперед, стосується використання співвідношення шансів і синтезу резуль-

Таблиця 2.2

Відповідність математичних методів завданням дослідження

Завдання дослідження	Математичні методи
Оцінка взаємозалежності (зв'язку) факторів, що впливають на здоров'я	Кореляційний аналіз, регресійний аналіз, кластерний аналіз
Оцінка взаємозалежності показників стану здоров'я	Кореляційний аналіз, регресійний аналіз, кластерний аналіз
Виявлення імовірності впливу того чи іншого фактора (чи його градацій) на показники здоров'я	Статистичні критерії розходження, дисперсійний аналіз
Взаємне зіставлення ступеня впливу факторів на показники здоров'я (значущість факторів) або оцінка інформативності показників здоров'я	Ранжирування за результатами кореляційного, регресійного, дисперсійного, дискримінантного аналізу
Кількісна оцінка ступеня впливу окремого фактора (його частки) з-поміж усієї безлічі факторів, що впливають на здоров'я	Дисперсійний аналіз (використання коефіцієнта детермінації в рамках кореляційного аналізу неприпустимо)
Кількісна оцінка ступеня впливу окремого фактора в обмеженій їхній сукупності	Регресійний аналіз (за b-коефіцієнтами), дискримінантний аналіз, парний і множинний кореляційний аналіз
Опис залежності показників здоров'я від факторів середовища	Регресійний аналіз
Прогноз здійснення того чи іншого результату (наприклад, виникнення хвороби)	Дискримінантний аналіз, регресійний аналіз
Розрахунок прогнозу зміни показників стану здоров'я при зміні рівня чи часу дії факторів	Регресійний аналіз, динамічний аналіз

татів кількох клінічних досліджень методами метааналізу.

Вираження результатів у шансах іноді використовується в неконтрольованих когортних дослідженнях, коли пацієнти дослідної групи порівнюються з історичним контролем [19; 23]. Шанси настання події розглядаються для однієї групи, тимчасом як при порівнянні двох груп використовується відношення шансів. Первинні дані наводяться у вигляді чотирипільної таблиці (табл. 2.3).

У табл. 2.3 під настанням події в досліді (А) розуміють виникнення клінічно значущого ефекту, як правило негативного (смерть, ускладнення, рецидив), при застосуванні медичної технології (терапевтичне чи хірургічне втручання) або при несприятливому впливі чинників довкілля, а у контролі (С) — за відсутності такого втручання. Відповідно за відсутності очікувано-

го клінічного ефекту пацієнтів дослідної і контрольної груп зараховують відповідно до підгруп В і D. Співвідношення абсолютної кількості позитивних результатів спостережень у дослідній і контрольній групах називаються шансами і широко використовуються у сучасній епідеміології. Наприклад, якщо зі 100 хворих, включених до дослідної групи, у 30 виникло ускладнення або побічні реакції, то шанси такої події становлять 3/7, або 0,43.

Таблиця 2.3

Результати клінічних досліджень

Група дослідження	Подія настала	Подія не настала
Дослід	А	В
Контроль	С	D

Для статистичного аналізу звичайно використовують натуральні логарифми шансів*:

$$\ln(\text{ODDS})_1 = \ln A/B;$$

$$\ln(\text{ODDS})_2 = \ln C/D,$$

де А — кількість пацієнтів дослідної групи, у яких виникла подія, що підлягає аналізу;

В — кількість пацієнтів дослідної групи, у яких подія не настала;

С — кількість пацієнтів контрольної групи, у яких виникла подія, що підлягає аналізу;

Д — кількість пацієнтів контрольної групи, у яких подія не настала.

Варіабельність шансу оцінюється за формулою:

$$\text{var}(\ln(\text{ODDS}))_1 = 1/A + 1/B,$$

а 95 % довірчий інтервал (ДІ) шансу розраховується так:

$$\ln(\text{ODDS}) \pm 1,96 \sqrt{\text{var}(\ln(\text{ODDS}))},$$

де $\text{var}(\ln(\text{ODDS}))$ — варіабельність (стандартне відхилення).

Приклад

У дослідженні ефективності статинів у лікуванні ішемічної хвороби серця взяли участь 204 пацієнти. Отримані такі результати: вижили 176 хворих і 28 померли [23].

Спочатку розраховуємо натуральний логарифм шансів настання смертельного випадку при використанні статинів у лікуванні ішемічної хвороби серця:

$$\ln(\text{ODDS}) = \ln(28/176) = -1,838.$$

Потім оцінюємо варіабельність $\ln(\text{ODDS})$ за вищенаведеною формулою:

$$\text{var}(\ln(\text{ODDS})) = 1/28 + 1/176 = 0,041.$$

З урахуванням одержаного значення розраховуємо 95 % ДІ $\ln(\text{ODDS})$:

$$-1,838 \pm 1,96 \sqrt{0,041} = (-2,234; -1,441).$$

За необхідності можна розраховувати ДІ шансу настання події шляхом потенціювання:

$$95\% \text{ ДІ для Ш} = (e^{-2,234} e^{-1,441}) = (0,11; 0,24).$$

Таким чином, для відношення шансів є коректним такий запис: Ш (95 % ДІ) = 0,16 (0,11; 0,24). Іншими словами, фактичний діапазон достовірності настання події (клінічного наслідку) лежить у межах 0,11 та 0,24, тобто він значно менше одиниці. Що ближчим до одиниці або більшим від одиниці є значення шансу, то гіршим є прогноз при використанні методу лікування, який аналізується. Однак ізольована оцінка шансів виконується рідко, як правило, проводиться зіставлення відношення шансів для різних клінічних груп.

Якщо вивчається частота нових випадків захворювання (наприклад, ВІЛ/СНІД), то можуть поєднуватися дані різних обсерваційних спостережень. Для оцінки рівнів частоти також використовується логарифмічна шкала:

$$\ln(\text{поширеність}) = \ln(d/q),$$

де d — події, що спостерігаються протягом q років.

Варіабельність поширеності оцінюється за формулою:

$$\text{var}(\ln(\text{поширеність})) = 1/d,$$

а 95 % ДІ визначається за формулою:

$$\ln(\text{поширеність}) \pm 1,96 \sqrt{\text{var}(\ln(\text{поширеність}))}.$$

Для роботи з порівнюваними парними величинами за цим типом даних також використовується чотирипільна таблиця (табл. 2.4):

На її підставі розраховують відношення шансів (OR — odds ratio):

Таблиця 2.4

Зразок чотирипільної таблиці, що узагальнює результати клінічного дослідження

Група дослідження	Несприятливий результат (померло, занедужало)	Успішний результат (вижило, видужало)
Дослід	a	b
Контроль	c	d

* Odds (англ.) — шанси.

$$OR = ad/bc \text{ при варіабельності} \\ \text{var}(\ln(OR)) = 1/a + 1/b + 1/c + 1/d.$$

Теоретично можлива ситуація, коли в одній з груп не буде жодного випадку несприятливого результату. Для того щоб уникнути ділення на нуль, при розрахунку варіабельності прийнято додавати 0,5 до кожного зі значень чотирипільної таблиці до обчислення відношення шансів (або їхніх логарифмів).

Приклад

У РКД [23] вивчалася ефективність застосування препаратів, що знижують рівень холестерину. Контрольна група включала 202 пацієнти, дослідна — 204. Результати дослідження наведені в табл. 2.5.

Таблиця 2.5

Результати рандомізованого контрольованого дослідження ефективності статинів

Група дослідження	Померло	Вижило	Усього
Дослід (нове лікування)	28	176*	204
Контроль	51	151	202

$$OR = (28 \cdot 151) / (176 \cdot 51) = 0,47.$$

Кількість несприятливих наслідків у дослідній групі становить близько половини несприятливих наслідків у контролі. Дане відношення може бути виражене у вигляді логарифма:

$$\ln(OR) = \ln(0,47) = -0,753.$$

Варіабельність натурального логарифма відношення шансів становить:

$$\text{var}(\ln(OR)) = 1/28 + 1/176 + 1/51 + 1/151 = \\ = 0,068.$$

Відповідно розрахований 95 % ДІ становить:

$$\ln(OR) \pm 1,96 \sqrt{\text{var}(\ln(OR))}^{**} = -0,753 \pm \\ \pm 1,96 \sqrt{0,068} = (-1,263; -0,243).$$

* Див. попередній приклад розрахунку шансів.

** Рівняння під коренем — стандартне відхилення відношення шансів.

При потенціюванні 95 % ДІ для відношення шансів становить $(e^{-1,263}; e^{-0,243}) = (0,28; 0,78)$. Цей інтервал визначає можливі значення відношення шансів смертельного результату в дослідній групі порівняно з контрольною групою.

У зв'язку з необхідністю корекції значень чотирипільної таблиці (додавання 0,5 до кожного поля) відношення шансів, використовуване для всіх подальших обчислень, становитиме: $OR = (28,5 \cdot 151,5) / (176,5 \cdot 51,5) = 0,48$, що незначно більше нескоректованого значення (0,47), розрахованого вище.

Таким чином, наведені у табл. 2.5 результати свідчать про певні переваги схеми лікування з включенням статинів (дослідна група) перед альтернативними схемами (плацебо-контроль). Про це свідчить достатньо вузький ДІ відношення шансів і те, що його максимальне значення (0,78) є меншим 1,0.

У табл. 2.6 наведені дані про несприятливі наслідки у РКД, використаних для складання систематичного огляду ефективності холестерин-знижувальних препаратів. Приклади розрахунків шансів для одного з РКД, яке лягло в основу цього систематичного огляду [23], було наведено на попередніх сторінках. На підставі цих даних фахівцями Cochrane Collaboration розраховані відношення шансів настання смертельних випадків при використанні статинів, порівняні з альтернативною терапією, тобто без застосування холестерин-знижувальних лікарських засобів (табл. 2.7). Як видно з табл. 2.7, значення відношень шансів у багатьох випадках були менше 1,0. Таким чином, використання статинів мало значний терапевтичний ефект і запобігало смерті пацієнтів, що взяли участь у дослідженні. Втім, величина ДІ різних РКД була різною, а значення відношення шансів (OR) суттєво відрізнялися. Звичайний підхід до оглядів літератури без урахування гетерогенності відповідних вибірок і методологічної чистоти проведення РКД не дає змоги сформулювати достатньо обґрунтовані практичні рекомендації.

Із впровадженням у сучасну клінічну медицину епідеміологічних підходів відбувся перехід до так званої доказової медицини. Для неї є характерним використан-

ня складних математико-статистичних алгоритмів, зокрема метааналізу, який дозволяє об'єднувати при аналізі дані, одержані у різний час на різних контингентах пацієнтів при відносній подібності дизайну дослідження.

Дуже подібним за методологією розрахунку до відношення шансів є відносний ризик (RR — relative risk), що легко розраховується як відношення ймовірності настання події в дослідній групі ($a/(a+b)$) до ймовірності настання події в контролі ($c/(c+d)$) [23]. Таким чином, формула розрахунку відносного ризику виглядає так:

$$RR = (a/(a+b))/(c/(c+d)).$$

Іншими словами, це відношення ризиків у порівнюваних групах. Так само як і для відношення шансів, відносний ризик може бути виражений у вигляді натурального логарифма, варіабельність якого розраховується за формулою:

$$\text{var}(\ln(RR)) = 1/a - 1/(a+b) + 1/c - 1/(c+d).$$

Приклад

Використовуючи дані, наведені в табл. 2.6, ми розраховували відносний ризик для першого дослідження:

$$RR = (28/(28+176))/(51/(51+151)) = 0,54.$$

У логарифмічному вираженні

$$\ln(0,54) = -0,609$$

варіабельність

$$\begin{aligned} \text{var}(\ln(RR)) &= 1/28 - 1/(28+176) + 1/51 - \\ &- 1/(51+151) = 0,045; \end{aligned}$$

95 % ДІ

$$\begin{aligned} \ln(RR) \pm 1,96 \cdot \sqrt{\text{var}(\ln(RR))} &= -0,609 \pm \\ &\pm 1,96 \cdot \sqrt{0,045} = (-1,027; -0,192); \end{aligned}$$

при потенціюванні 95 % ДІ для $RR = (e^{-1,027}; e^{-0,192}) = (0,36; 0,83)$.

Зниження абсолютного ризику (ЗАР; англ. RD — risk decrease):

$$RD = (a/(a+b)) - (c/(c+d)).$$

Варіабельність визначається за формулою:

$$\text{var}_{RD} = \frac{p_1(1-p_1)}{n_1} + \frac{p_2(1-p_2)}{n_2},$$

де p_1 і p_2 — спостережувані рівні зустрічальності шуканого результату в дослідній і контрольній групах відповідно: $p_1 = a/a+b$ і $p_2 = c/c+d$, $n_1 = a+b$ і $n_2 = c+d$.

Приклад розрахунку:

$$RD = (28/(28+176)) - (51/(51+151)) = -0,115.$$

$$p_1 = 28/(28+176) = 0,137;$$

$$p_2 = 51/(51+151) = 0,252;$$

$$n_1 = (28+176) = 204;$$

$$n_2 = (51+151) = 202;$$

$$\begin{aligned} \text{var}(RD) &= 0,137(1-0,137)/204 + \\ &+ 0,252(1-0,252)/202 = 0,0015. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 95 \% \text{ ДІ } RD \pm 1,96 \cdot \sqrt{\text{var}RD} &= -0,115 \pm \\ &\pm 1,96 \cdot \sqrt{0,0015} = (-0,19; -0,04). \end{aligned}$$

Похідною від вищенаведених даних величиною є кількість хворих, що потребують лікування (number needed to treat) — ЧХПЛ [2; 23].

$$\text{ЧХПЛ} = 1/\text{ЗАР} = 1/(a/(a+b)) - (c/(c+d)).$$

Наведені величини дуже часто використовуються у сучасній фаховій літературі, що потребує від лікаря розуміння їхньої сутності. Зниження ЧХПЛ та збільшення ЗАР свідчить на користь більш високої ефективності методу лікування. Наприклад, якщо для вищенаведеного прикладу розрахунку ЗАР буде обчислена величина ЧХПЛ, то вона дорівнюватиме 1/0,115, або 8,70.

Це значить, що застосування статинів у лікуванні ішемічної хвороби серця дозволяє запобігти смерті одного з дев'яти пацієнтів. Для Одеської області, де середній рівень поширення ішемічної хвороби серця серед населення становить 21 674 випадки на 100 000 населення, тобто близько 42 000 хворих [24], це означає можливість зберегти життя 4666 особам. Сьогодні статини є невід'ємною складовою стандартного клінічного протоколу ішемічної хвороби серця, але включенню їх до лікарських формулярів і клінічних посібників передувало проведення масштабних багатоцент-

рових РКД, їх узагальнення та розрахунок статистичних критеріїв клінічної ефективності, приклади якого наведені у цьому розділі.

Іноді щодо даних шкали співвідношень, до яких належать різноманітні фізіологічні характеристики (життєва ємність легень, частота пульсу, маса, артеріальний тиск, спектральні показники варіабельності серцевого ритму, вміст гормонів або метаболітів у сироватці крові), у клінічній епідеміології застосовують такі показники, як різниця середніх величин та її стандартне відхилення [8; 23].

Різниця середніх величин* визначається за формулою:

$$T = m_t - m_c$$

Сама по собі ця величина є малоінформативною.

Варіабельність різниці середніх величин розраховується за формулою

$$\text{var}(T) = s^2(1/n_t + 1/n_c),$$

де n_t — розмір вибірки в дослідній групі;

n_c — розмір вибірки в контрольній групі;

s^2 — дисперсія.

Стандартне відхилення різниці середніх величин визначається за формулою Hedges—Olkin's [23]

$$s = \sqrt{\frac{(n_t - 1)(s_t)^2 + (n_c - 1)(s_c)^2}{n_t + n_c - 2}},$$

де n_t і n_c — розміри дослідної та контрольної груп;

s_t — стандартне відхилення в дослідній групі;

s_c — стандартне відхилення в контрольній групі.

Важливу роль в оцінці та зіставленні результатів клінічних досліджень відіграє оцінка їхньої гетерогенності. Як правило, для оцінки гетерогенності вибірки використовують стандартний s^2 тест [23]:

* У дослідній і контрольній групах.

$$Q = \sum_{i=1}^k w_i T_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^k w_i T_i)^2}{\sum_{i=1}^k w_i},$$

де w_i — маса (обернена величина варіабельності ознаки в i дослідженні);

T_i — ефект лікування в i дослідженні;

k — кількість досліджень;

Q розглядається як s^2 розподіл за $(k - 1)$ ступенями довільності.

Приклад

Оцінка неоднорідності 34 РКД (див. табл. 6, 7), використаних при складанні систематичного огляду з ефективності препаратів, що знижують рівень холестерину в крові, дає змогу розрахувати такі критеріальні значення:

$$\begin{aligned} Q &= ((1/0,07) \cdot (-0,74)^2) + \dots + \\ &+ ((1/1 \dots 15) \cdot (-0,31)^2) - ((1/0,07) \cdot (-0,74)) + \dots \\ &+ ((1/1 \dots 15) \cdot (-0,31)) / (1/0,07 + \dots + 1/1 \dots 15) = \\ &= 88,23 > 1^{**} \quad (p < 0,0001). \end{aligned}$$

Це значить, що неоднорідність висока, і для проведення метааналізу необхідно вибрати модель із випадковим ефектом.

Труднощі в інтерпретації результатів клінічних досліджень можуть бути обумовлені кількома причинами.

1. Статична потужність тесту на неоднорідність у більшості випадків невелика внаслідок невеликої кількості поєднаних досліджень. У зв'язку з цим рекомендують змінювати критерії достовірності до 0,10 замість звичайних 0,05. Це є звичайною практикою в метааналізі.

2. Коли розмір вибірки в кожному дослідженні дуже великий, тест на гетерогенність відкидається, навіть якщо відмінності розмірів ефекту за окремими дослідженнями невеликі.

3. Недоліки у плануванні дослідження та статистичні похибки можуть значно ускладнити інтерпретацію тесту на неоднорідність. Якщо передбачається, що всі дослідження мають ті самі недоліки і що результати досліджень із негативним і/або

** s^2 розподіл при 33 ступенях довільності.

Результати 34 рандомізованих контрольованих досліджень, використаних для складання систематичного огляду ефективності застосування холестерин-знижувальних препаратів [23]

№ РКД	Кількість пацієнтів		Усього померло		Померло від захворювань серця	
	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль
1	204	202	28	51	25	45
2	285	147	70	38	62	35
3	156	119	37	40	34	39
4	88	30	2	3	2	2
5	30	33	0	3	0	2
6	279	276	61	82	47	73
7	206	206	41	55	37	50
8	123	129	20	24	17	20
9	1018	1015	111	113	97	97
10	427	143	81	27	71	23
11	244	253	31	51	25	44
12	50	50	17	12	13	10
13	47	48	23	20	13	5
14	30	60	0	4	0	4
15	5552	2789	1025	723	826	632
16	424	422	174	178	41	50
17	199	194	28	31	25	25
18	350	367	42	48	34	35
19	79	78	4	5	2	4
20	1149	1129	37	48	19	31
21	221	237	39	28	35	26
22	54	26	8	1	8	1
23	71	72	5	7	5	6
24	4541	4516	269	248	61	54
25	421	417	49	62	32	44
26	94	94	0	1	0	1
27	311	317	19	12	17	8
28	1906	1900	68	71	32	44
29	2051	2030	44	43	14	19
30	6582	1663	33	3	28	3
31	5331	5296	236	181	91	77
32	48	49	0	1	0	0
33	94	52	1	0	1	0
34	23	29	1	2	1	0

«нульовим» результатом публікуються значно рідше, то ефект може бути більш сильним.

Деякі автори не рекомендують використовувати стандартний χ^2 тест у метааналізі [23], обмежуючи його використання тільки як діагностичний інструмент при плануванні/моделюванні розходжень між дослідженнями. Набагато більш чутливим мето-

дом є оцінка магнітуди розходжень між дослідженнями.

Як альтернатива наведеному методу можуть використовуватися такі статистичні методики [23]:

1. Однофакторний варіаційний аналіз (ANOVA) для оцінки гетерогенності між групами й усередині окремих груп.

Таблиця 2.7

Розрахунки відношень шансів щодо несприятливих наслідків рандомізованих контрольованих досліджень за ефективності застосування холестерин-знижувальних препаратів [23]

№ РКД	Var(ln(OR))	ln(OR)(95 % ДІ)	OR (95 % ДІ)
1	0,07	-0,74 (-1,25; -0,24)	0,48 (0,29; 0,79)
2	0,05	-0,07 (-0,53; 0,38)	0,93 (0,59; 1,47)
3	0,07	-0,48 (-1,01; 0,04)	0,62 (0,36; 1,04)
4	0,73	-1,48 (-3,16; 0,20)	0,23 (0,04; 1,22)
5	2,35	-1,95 (-4,95; 1,06)	0,14 (0,01; 2,89)
6	0,04	-0,41 (-0,79; -0,03)	0,66 (0,45; 0,97)
7	0,05	-0,38 (-0,84; 0,08)	0,68 (0,43; 1,08)
8	0,11	-0,16 (-0,81; 0,49)	0,85 (0,45; 1,63)
9	0,02	-0,02 (-0,30; 0,25)	0,98 (0,74; 1,29)
10	0,06	0,00 (-0,48; 0,48)	1,00 (0,62; 1,61)
11	0,06	-0,54 (-1,03; -0,06)	0,58 (0,36; 0,94)
12	0,19	0,48 (-0,39; 1,34)	1,61 (0,68; 3,81)
13	0,17	0,29 (-0,51; 1,09)	1,33 (0,60; 2,97)
14	2,27	-1,58 (-4,54; 1,37)	0,21 (0,01; 3,95)
15	0,00	-0,44 (-0,54; -0,33)	0,65 (0,58; 0,72)
16	0,02	0,05 (-0,32; 0,23)	0,95 (0,73; 1,25)
17	0,08	-0,15 (-0,70; 0,40)	0,86 (0,50; 1,50)
18	0,05	-0,10 (-0,54; 0,34)	0,91 (0,58; 1,41)
19	0,43	-0,23 (-1,51; 1,06)	0,80 (0,22; 2,88)
20	0,05	-0,29 (-0,72; 0,15)	0,75 (0,49; 1,16)
21	0,07	0,46 (-0,06; 0,99)	1,59 (0,94; 2,68)
22	0,85	1,13 (-0,67; 2,94)	3,11 (0,51; 18,83)
23	0,35	-0,33 (-1,48; 0,83)	0,72 (0,23; 2,29)
24	0,01	0,08 (-0,10; 0,26)	1,08 (0,91; 1,29)
25	0,04	-0,28 (-0,68; 0,12)	0,76 (0,51; 1,13)
26	2,69	-1,11 (-4,32; 2,10)	0,33 (0,01; 8,20)
27	0,14	0,49 (-0,24; 1,22)	1,63 (0,79; 3,37)
28	0,03	-0,05 (-0,39; 0,29)	0,95 (0,68; 1,34)
29	0,05	0,01 (-0,41; 0,44)	1,01 (0,66; 1,55)
30	0,32	0,89 (-0,22; 1,99)	2,43 (0,81; 7,31)
31	0,01	0,27 (0,07; 0,47)	1,31 (1,07; 1,59)
32	2,71	-1,10 (-4,32; 2,13)	0,33 (0,01; 8,39)
33	2,70	0,52 (-2,70; 3,74)	1,68 (0,07; 42,10)
34	1,15	-0,31 (-2,41; 1,79)	0,73 (0,09; 5,99)

2. Статистичний аналіз за Gail і Simon — оцінка розходжень у спрямованості ефекту.

3. Тест на неоднорідність за Zelen.

4. Регресійний аналіз.

5. Методи, засновані на аналізі відношень правдоподібності.

Для графічного зображення результатів метааналізу зазвичай використовують діа-

граму Peto (рис. 2.1). На даному рисунку результати зображені у вигляді горизонтальних рисок. Розмір квадрата в середині риси відповідає розмірам вибірки, довжина риси відповідає розмірам ДІ, розрахованого за вищенаведеними алгоритмами.

Якщо ДІ співвідношення шансів перевищує 1, то результати клінічного випро-

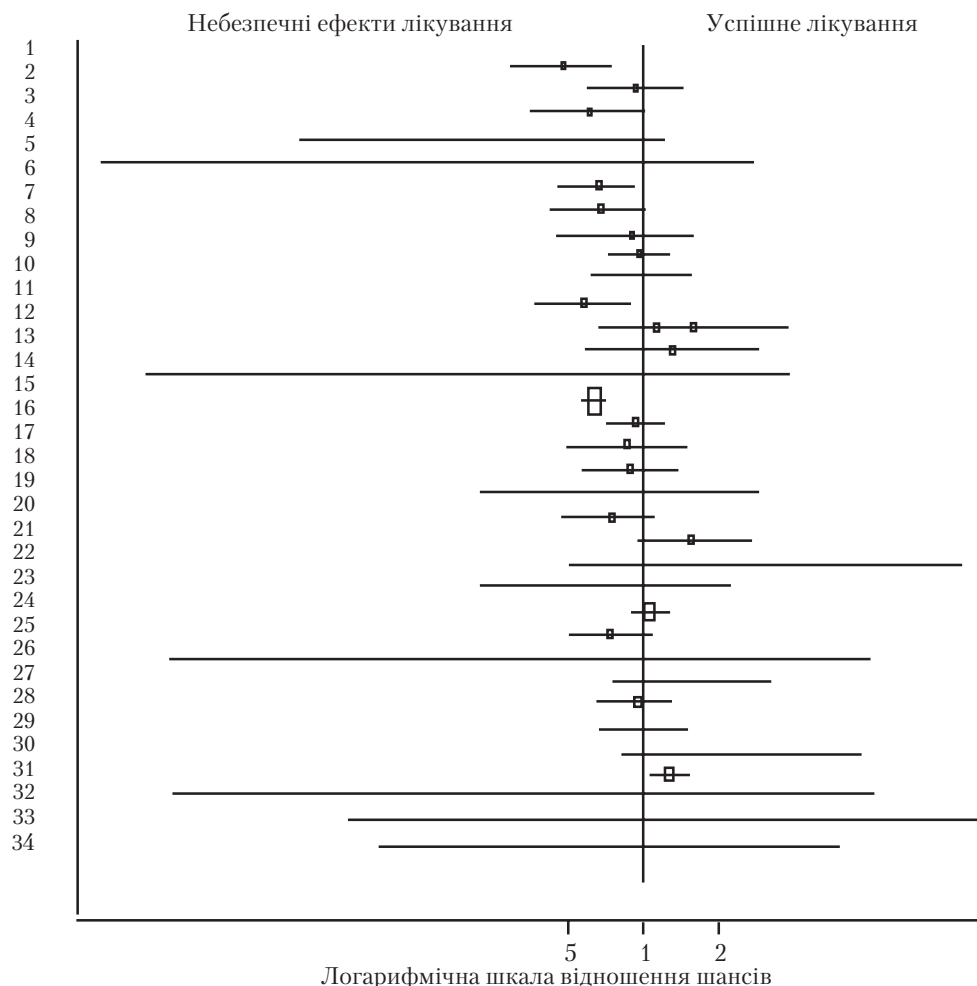


Рис. 2.1. Результати метааналізу 34 рандомізованих контрольованих досліджень, присвячених застосуванню препаратів, що знижують рівень холестерину [23]

бовування розглядаються як незадовільні [8–13; 19–23]. По суті, такий варіант значень співвідношення шансів свідчить, що ризик від застосування нового методу лікування є більшим, ніж той позитивний ефект, який воно може викликати.

У практиці клінічної епідеміології часто доводиться порівнювати різні методи діагностики. Для цього використовують так звані операційні характеристики діагностичного тесту, під якими розуміють показники, що свідчать про здатність діагностичного методу надавати необхідну для діагностики інформацію, яка доз-

воляє уникнути як гіпо- так і гіпердіагностики [25–27]. Як референтний критерій використовують параметр, який є стандартним для верифікації даного виду патології. Наприклад, при проведенні досліджень поширеності онкологічної патології таким критерієм може служити імуногістохімічна або гістологічна верифікація.

Під чутливістю розуміють інтенсивний показник, що віддзеркалює частку явища, яку можна виявити за допомогою діагностичного методу. Специфічність відображає здатність методу не давати псевдопозитив-

них результатів. Під прогностичністю позитивного результату розуміють ймовірність наявності явища (хвороби, зміни соматичного здоров'я) у випробовуваного, у якого метод дав позитивний результат, тобто частку справжньопозитивних результатів серед усіх позитивних. Відповідно, прогностичність негативного результату — це ймовірність відсутності явища, що вивчається, у пацієнта, у якого метод дав негативний результат, або частка справжньонегативних результатів серед усіх негативних [27].

Відношення правдоподібності позитивного результату тесту (ВП+) — відношення імовірності отримання справжньопозитивного результату до імовірності отримання псевдопозитивного результату. Відповідно, ВП- (відношення правдоподібності негативного результату тесту) — відношення імовірності отримання справжньонегативного результату до імовірності отримання псевдонегативного результату. Під діагностичною цінністю тесту розуміють відношення справжніх результатів тесту (як позитивних, так і негативних) до суми помилкових результатів.

Алгоритм оцінки вищезазначених показників наведена у табл. 2.8.

За наведеними у таблиці результатами розраховуються такі операційні характеристики тесту:

— чутливість

$$Se = D / (B + D);$$

— специфічність

$$Sp = A / (A + C);$$

— прогностичність позитивного результату

$$PVP = D / (C + D);$$

— прогностичність негативного результату

$$PVN = A / (A + B);$$

— відношення правдоподібності позитивного результату

$$BP+ = \frac{Se}{1 - Sp};$$

— відношення правдоподібності негативного результату

$$BP- = \frac{1 - Se}{Sp};$$

— діагностична цінність тесту

$$DVT = \frac{A + D}{B + C} \cdot 100 \ %.$$

На думку більшості дослідників [28–30], використання у практиці епідеміологічних досліджень методів, що мають чутливість і специфічність менше 70 %, є недоцільним.

2.3. Характеристика спеціальних статистичних методів, які використовуються у клінічній та молекулярній епідеміології

Різноманітність прийомів обробки результатів досліджень утруднює вибір оптимального методу. Сьогодні в арсеналі дослідника існує велика кількість спеціалізованих статистичних програм, які дозволяють значно спростити обробку й аналіз одержаних даних. Втім, для коректного користування ними необхідне розуміння їх

Таблиця 2.8

Алгоритм визначення діагностичної цінності тесту

Результати тесту	Референтний критерій	
	Діагноз не підтвердився	Підтвердження діагнозу
Негативний результат	A (TN) справжньонегативний результат	B (FN) псевдонегативний результат
Позитивний результат	C (FP) псевдопозитивний результат	D (TP) справжньопозитивний результат

переваг і недоліків, а також чітке дотримання методології аналізу [14; 20–22].

Це, насамперед, стосується випадків, коли кількість спостережень є обмеженою, тобто при так званих малих вибірках. Використання екзотичних статистичних методів не дає змоги встановити статистично значущі закономірності, якщо їх немає; це стосується і параметричних, і непараметричних методів. Спрощені методи статистичного аналізу, популярні у 1960–1970-х роках [32; 33], також мають використовуватися обмежено.

Залежно від виду даних і типу їх розподілу дослідник має використати той чи інший метод, який найбільшою мірою відповідає меті та завданням дослідження. При цьому іноді виникає потреба використання методів апроксимації, зокрема g -оцінки, множинного методу, методу Вальда тощо [8; 34].

Найбільшого поширення набула апроксимація за методом Вальда, відповідно до якої 95 % ДІ величини дорівнює $M \pm 1,96s$. Існують і інші методи апроксимації, придатні для розрахунку довірчого інтервалу. Межі точного довірчого інтервалу для невідомої імовірності знаходять за допомогою рівнянь Клопера — Пірсона для визначення квантилів біноміального розподілу $Bi(p, n)$, де n — розмір вибірки. Для великих n точне розв'язання цих рівнянь є складним, тому частіше використовується їх нормальна апроксимація. Межі довірчого інтервалу для експоненціального розподілу визначаються квантилями розподілу χ^2 при $2n$ ступенях свободи. При малих значеннях популяційної достовірності більш вузьким є інтервал, розрахований за методом Клопера — Пірсона, при великих — більш вузький інтервал Агресті — Коула [8; 34].

У молекулярній епідеміології найбільше значення має визначення абсолютного ризику, тобто різниці між частотою виникнення патології в осіб, які підлягають впливу додаткових факторів ризику [31; 35]. Наприклад, результати епідеміологічних досліджень свідчать, що у 50-річних білих жінок, в яких менархе настало у 12 років, які у 31 рік народили першу дитину та у

яких в анамнезі була щонайменше одна біопсія без атипової гіперплазії, абсолютний ризик виявлення раку молочної залози у віці від 50 до 55 років становить 2,3 %, а у віці від 50 до 90 років — 20,1 % [36]. Наведені значення не є точними, тому що ці розрахунки не беруть до уваги можливість смерті від інших причин.

Однак для молекулярної епідеміології такий стан речей є неприйнятним, тому при розрахунках генетично обумовленого ризику виникнення захворювання на рак або смерті від нього проводиться цензурування даних. Використання розрахунку абсолютного ризику у жінок дозволяє визначити дійсний ризик виникнення тієї чи іншої патології, а отже, й більш диференційовано застосовувати заходи профілактики. Так, Freedman et al. [37] визначили, що при правильному використанні лікування тамоксифеном у США можна запобігти виникненню близько 30 000 випадків інвазивного раку молочної залози. Урахування генетичних варіантів у чоловіків, що страждають на рак простати, дозволяє більш точно оцінити прогноз і покращити ефективність лікування.

Слід зазначити, що для аналізу абсолютного ризику більш придатними є проспективні когортні дослідження, ніж дослідження типу «випадок-контроль». Крім того, для дослідження рідкісних генетичних варіантів доцільно, перш за все, досліджувати так звані сімейні випадки захворювання. Моделі, побудовані на використанні абсолютного ризику, можуть відрізнятися, тому що в них можуть використовуватися різні підходи й аналізуватися різні типи даних. Наприклад, модель Гейла ризику виникнення раку молочної залози побудована на емпіричному використанні логістичної регресії для відношень шансів. Результати дослідження сімейного анамнезу включають дані про кількість родичів першого ступеня, які хворіли або хворіють на цю патологію, а також співвідношення до віку, в якому ця жінка народила першу дитину. Модель не враховує ані чисельності родичів, що хворіють на рак молочної залози, ані їхнього віку, але враховує вік менархе, вік, у якому жінка

народила першу дитину, кількість виконаних біопсій, наявність атипової гіперплазії молочної залози. Натомість, моделі Клауса та BRCAPRO ґрунтуються виключно на гіпотезі про автосомно-домінантний характер успадкування схильності до раку молочної залози. При збиранні сімейного анамнезу враховується більше характеристик, а у разі використання моделі BRCAPRO можуть застосовуватися такі генетичні маркери, як BRCA1 та BRCA2 [38].

Втім, ці моделі не дозволяють оцінити вплив інших генетичних факторів ризику, тому більш сучасні моделі, наприклад, BOADICEA, передбачають урахування більшої кількості генів-кандидатів, а моделі Тірера, Дафі і Кузіка дозволяють оцінювати ризик виникнення пухлини за наявності домінантного гена з низькою пенетрантністю [31; 39; 40].

Для аналізу придатні дані, одержані при будь-якому дизайні епідеміологічного дослідження. У проспективних когортних дослідженнях, виконаних на достатньо репрезентативних вибірках, є можливим визначити вік виникнення пухлини та настання смерті [23]. При цьому відносний ризик розвитку раку молочної залози від дії фактора X у певному віці t дорівнює:

$$r(a, t, X) = \frac{a+t}{a} \frac{\int_a^t r\{X(u)\}h_1(u) + h_2(u) du}{\int_a^t r\{X(u)\}h_1(u) + h_2(u) du} dt.$$

Для аналізу виживання хворих використовують спеціальні статистичні методи (Каплан — Мейера тощо). До формування відповідних когорт залучають спеціалізовані клініки мамологічного й онкологічного профілю, які відвідують жінки з обтяженим спадковим анамнезом і випадками «сімейного раку». У зв'язку з цим, результати, одержані у подібних когортних дослідженнях, не можуть бути поширені безпосередньо на загальну популяцію, в якій зустрічальність рідкісних генетичних варіантів є більш низькою [41]. Для розрахунку абсолютного ризику для загальної популяції використовують спеціальні статистичні методи.

Основним недоліком проспективних когортних досліджень є їх значна тривалість. Тому нерідко використовується дизайн ретроспективного когортного дослідження, при якому визначаються чинники, що впливають на реалізацію ризику виникнення вже діагностованого випадку захворювання. Джерелами інформації при цьому є медична документація та електронні бази даних. В ідеалі ретроспективне дослідження має надати повну інформацію про анамнез захворювання та особливості його перебігу для всіх членів когорти. Однак на практиці фахівці нерідко стикаються з «прогалинами» в документації, недостатнім обсягом обстеження, у тому числі медико-генетичного, або неможливістю з'ясувати важливі деталі анамнезу. Це впливає на якість дослідження і значно збільшує статистичну похибку. Як правило, абсолютний ризик виникнення захворювання, розрахований на підставі ретроспективних даних, є завищеним, тому що основним критерієм відбору є наявність діагностованої патології, наразі ігноруються випадки, коли в особи з подібним набором факторів ризику захворювання не виникло.

У сучасній генетичній епідеміології досить часто використовується модель «випадок-контроль». Цим підходом користуються як у популяційних дослідженнях, так і у сімейних. Наприклад, Costantino et al. [42] описали, як модифікована модель Гейла може бути застосована у популяційному дослідженні. Дослідники використали дані про захворюваність на рак молочної залози, отримані у програмі національного інституту здоров'я США SEER, національного реєстру смертності, визначили відносний ризик виникнення патології за результатами проекту скринінгу раку молочної залози (Breast Cancer Detection Demonstration Project — BCDDP). Абсолютний ризик був визначений з урахуванням результатів дослідження зв'язку раку молочної залози із застосуванням гормональних контрацептивів (Cancer and Steroid Hormone (CASH) Study).

Сімейний дизайн дослідження «випадок-контроль» також застосовується вель-

ми часто. Якщо мутація, яка досліджується, є рідкісною, то для оцінки її ролі як фактора ризику перевагу має дослідження «сімейних» випадків хвороби. Однак зрозуміло, що рівень відносного ризику, одержаний у такому дослідженні, є значно вищим, ніж у загальній популяції. Різновидами сімейних досліджень є дослідження, виконані на когортах близьких родичів (Kin-Cohort Design). На першому етапі рандомізовано формується група спостереження і група контролю. Після цього у дослідження включаються найближчі родичі пробандів, у яких було виявлено носійство патологічно обтяженого варіанта відповідного гена. Так, при визначенні ризику виникнення раку молочної залози у жінок, що належали до етнічної групи євреїв ашкеназі з мутаціями BRCA1 та BRCA2, абсолютний ризик був оцінений як подвійний від рівня ризику, встановленого для родичів пробанда 1-го ступеня та як половинний від того, що був визначений у носіїв мутації [43]. Для пояснення процедури розрахунку ризиків і визначення відношення правдоподібності для їх значень розроблені спеціальні методики, які враховують генетичні закони наслідування та принцип так званої умовної незалежності, відповідно до якого інтенсивність несприятливого впливу в окремій сім'ї та у загальній популяції є однаковими. Використання методу обмежується тим, що на етапі відбору кандидатів для дослідження значний вплив має суб'єктивний фактор, крім того, у таких дослідженнях здебільшого беруть участь члени сімей, де хворіють одразу кілька осіб. Крім того, результати, одержані у таких дослідженнях, є важко відтворюваними [23; 43].

Як альтернативу когортним дослідженням із включенням найближчих родичів використовують модель «складних множинних родинних стосунків». При цьому у дослідженні беруть участь не лише родичі першого ступеня, що дозволяє наблизити рівні розрахункового ризику до загальнопопуляційних [31].

Розрахунок абсолютного ризику у практиці клінічної епідеміології має надзвичайно велике значення, насамперед завдяки

тій обставині, що це значно покращує ефективність консультування хворих з питань профілактики та зменшує ризик застосування потенційно шкідливих медичних втручань, які можуть бути необхідними у пацієнтів з високим ступенем ризику, але застосування яких у загальній популяції є недоцільним [31; 44; 45].

У зв'язку з тим, що генетичні ризики виникнення соціально значущої патології обумовлені існуванням цілого комплексу генів, а список генів-кандидатів, асоційованих з тією чи іншою хворобою, постійно розширюється [46], найбільший пріоритет у науково-дослідній та практичній діяльності останніми роками віддають складним моделям множинного ризику [47–50]. Втім, для успішного їх застосування необхідно покращити як методологічний рівень досліджень, що проводяться, так і якісно змінити матеріально-технічне забезпечення відповідних вітчизняних лікувально-профілактичних установ. Це стосується, насамперед, питань впровадження молекулярно-генетичного скринінгу [31; 51].

Список літератури

1. *Воробьев К. П.* Доказательная медицина — новая методология медицинской практики. Часть IV. Доказательная медицина для врача / К. П. Воробьев // Украинский медицинский альманах. — 2005. — № 33. — С. 35-39.
2. *Флетчер Р.* Клиническая эпидемиология: основы доказательной медицины / Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер. — М.: МедиаСфера, 1998. — 350 с.
3. *Воробьев К. П.* Доказательная медицина — новая методология медицинской практики. Часть III. Сущность клинической эпидемиологии / К. П. Воробьев // Украинский медицинский альманах. — 2005. — № 2. — С. 32-36.
4. *Воробьев К. П.* Доказательная медицина — новая методология медицинской практики. Часть I. Мотивации врача и исследователя при изучении доказательной медицины / К. П. Воробьев // Украинский медицинский альманах. — 2004. — № 5. — С. 41-45.

5. Воробьев К. П. Доказательная медицина — новая методология медицинской практики. Часть II. Сущность доказательной медицины / К. П. Воробьев // Украинский медицинский альманах. — 2004. — № 6. — С. 142-146.
6. Гринхальт Т. Основы доказательной медицины / Т. Гринхальт ; пер. с англ. — 3-е изд. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 288 с.
7. Stevens P. E. Focus groups: collecting aggregate-level data to understand community health phenomena / P. E. Stevens // Public. Health Nurs. — 1996. — Vol. 13, N 3. — P. 170-176.
8. Антомонов М. Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных / М. Ю. Антомонов. — К., 2006. — 558 с.
9. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии / Н. А. Плохинский. — М. : Изд-во МГУ, 1980. — 150 с.
10. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; пер. с англ. — М. : Практика, 1998. — 459 с.
11. Лукьянова Е. А. Медицинская статистика / Е. А. Лукьянова. — М. : РУДН, 2002. — 246 с.
12. Гаскаров Д. В. Малая выборка / Д. В. Гаскаров, В. И. Шаповалов. — М., 1978. — 248 с.
13. Петри А. Наглядная медицинская статистика / А. Петри, К. Сэбин. — 2-е изд. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 168 с.
14. Інформаційні технології у медицині / В. І. Федів, В. Ф. Мислицький, К. Б. Тимочко [та ін.]. — Чернівці : Прут, 2006. — 242 с.
15. Дюк В. Data Mining / В. Дюк, А. Самойленко. — СПб. : Питер, 2001. — 454 с.
16. Антомонов М. Ю. Математические аспекты информационных технологий при анализе системы «окружающая среда — здоровье населения» / М. Ю. Антомонов // Клиническая информатика и телемедицина. — 2004. — № 1. — С. 90-95.
17. Correction for misclassification of a categorized exposure in binary regression using replication data / I. Dalen, J. P. Buonaccorsi, J. A. Sexton [et al.] // Stat. Med. — 2009. — Vol. 28, N 27. — P. 3386-3410.
18. Drewes D. W. Subject-centered scalability: the sine qua non of summated ratings / D. W. Drewes // Psychol. Methods. — 2009. — Vol. 14, N 3. — P. 258-274.
19. Медик В. А. Статистика в медицине и биологии. Том 2. Прикладная статистика здоровья / В. А. Медик, М. С. Токмачев, Б. Б. Фишман. — М. : Медицина, 2001. — 352 с.
20. Боровиков В. П. Прогнозирование в системе СТАТИСТИКА в среде Windows / В. П. Боровиков, Г. И. Ивченко. — М. : Финансы и статистика, 1999. — 380 с.
21. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. — М. : МедиаСфера, 2002. — 312 с.
22. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных / А. А. Халафян. — 3-е изд. — М. : ООО «Бином-Пресс», 2007. — 512 с.
23. Methods for Meta-Analysis in Medical Research (Wiley Series in Probability and Statistics — Applied Probability and Statistics Section) / A. J. Sutton, K. R. Abrams, D. R. Jones [et al.]. — 1 ed. — Wiley, 2000. — 346 p.
24. Статистичний звіт управління охорони здоров'я та медицини катастроф Одеської області за 2008 р. — Одеса, 2009. — 226 с.
25. Drobatz K. J. Measures of accuracy and performance of diagnostic tests / K. J. Drobatz // J. Vet. Cardiol. — 2009. — Vol. 11, Suppl. 1. — P. 33-40.
26. Fischer J. E. A readers' guide to the interpretation of diagnostic test properties: clinical example of sepsis / J. E. Fischer, L. M. Bachmann, R. Jaeschke // Intensive Care Med. — 2003. — Vol. 29, N 7. — P. 1043-1051.
27. Gallagher E. J. Evidence-based emergency medicine/editorial. The problem with sensitivity and specificity / E. J. Gallagher // Ann. Emerg. Med. — 2003. — Vol. 42, N 2. — P. 298-303.
28. Diamond G. A. Clinical epistemology of sensitivity and specificity / G. A. Diamond // J. Clin. Epidemiol. — 1992. — Vol. 45, N 1. — P. 9-13.
29. Pritts E. A. Evidence-based medicine: evaluating diagnostic tests / E. A. Pritts, A. Duleba, D. L. Olive // J. Am. Assoc. Gynecol. Laparosc. — 1999. — Vol. 6, N 1. — P. 105-112.

30. *Simundić A. M.* Dijagnostička točnost / A. M. Simundić // *Acta. Med. Croatica.* — 2006. — Vol. 60, Suppl. 1. — P. 93-111.
31. *Wild C.* Molecular Epidemiology of Chronic Diseases / C. Wild, P. Vineis, S. Garte. — 1 ed. — Wiley, 2008. — 384 p.
32. *Ашмарин И. П.* Быстрые методы статистической обработки и планирование эксперимента / И. П. Ашмарин, Н. Н. Васильев, В. А. Амбросов. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1975. — 79 с.
33. *Кенуй М. Г.* Быстрые статистические вычисления. Упрощенные методы оценивания и проверки: [справочник] / М. Кенуй. — М.: Статистика, 1979. — 72 с.
34. *Gart J. J.* Simple tests of homogeneity of controls in matched studies / J. J. Gart // *Stat. Med.* — 1991. — Vol. 10, N 8. — P. 1257-1266.
35. *Le calcul du risque cardiovasculaire absolu en pratique* / H. Mayaudon, O. Dupuy, L. Bordier [et al.] // *Diabetes Metab.* — 2001. — Vol. 27, N 1. — P. 82-86.
36. *Baltzell K.* Strengths and limitations of breast cancer risk assessment / K. Baltzell, M. R. Wrensch // *Oncol. Nurs. Forum.* — 2005. — Vol. 32, N 3. — P. 605-616.
37. *Estimates of the number of US women who could benefit from tamoxifen for breast cancer chemoprevention* / A. N. Freedman, B. I. Graubard, S. R. Rao [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* — 2003. — Vol. 95, N 7. — P. 526-532.
38. *Prediction of BRCA Mutations Using the BRCAPRO Model in Clinic-Based African American, Hispanic, and Other Minority Families in the United States* / D. Huo, R. T. Senie, M. Daly [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2009. — Vol. 27, N 8. — P. 1184-1190.
39. *Predicting the likelihood of carrying a BRCA1 or BRCA2 mutation: validation of BOADICEA, BRCAPRO, IBIS, Myriad and the Manchester scoring system using data from UK genetics clinics* / A. C. Antoniou, R. Hardy, L. Walker [et al.] // *J. Med. Genet.* — 2008. — Vol. 45, N 7. — P. 425-431.
40. *The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancers: updates and extensions* / A. C. Antoniou, A. P. Cunningham, J. Peto [et al.] // *Br. J. Cancer.* — 2008. — Vol. 98, N 8. — P. 1457-1166.
41. *Risk of ovarian cancer in breast-cancer patients with a family history of breast or ovarian cancer: a population-based cohort study* / K. Bergfeldt, B. Rydh, F. Granath [et al.] // *Lancet.* — 2002. — Vol. 360, N 9337. — P. 891-894.
42. *Validation studies for models projecting the risk of invasive and total breast cancer incidence* / J. P. Costantino, M. H. Gail, D. Pee [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* — 1999. — Vol. 91, N 18. — P. 1541-1548.
43. *Chatterjee N.* Adjustment for competing risk in kin-cohort estimation / N. Chatterjee, P. Hartge, S. Wacholder // *Genet. Epidemiol.* — 2003. — Vol. 25, N 4. — P. 303-313.
44. *Claus E. B.* Risk models in genetic epidemiology / E. B. Claus // *Stat. Methods Med. Res.* — 2000. — Vol. 9, N 6. — P. 589-601.
45. *Chen Y. C.* Molecular epidemiology of cancer / Y. C. Chen // *CA Cancer J. Clin.* — 2005. — Vol. 55, N 1. — P. 45-54.
46. *Rhee H.* MedRefSNP: a database of medically investigated SNPs / H. Rhee, J. S. Lee // *Hum. Mutat.* — 2009. — Vol. 30, N 3. — P. 460-466.
47. *Запорожан В. Н.* Молекулярная эпидемиология — связующее звено между фундаментальными исследованиями и практическим здравоохранением (обзор литературы и собственных исследований) / В. Н. Запорожан, Ю. И. Бажора // *Журнал Академії мед. наук України.* — 2008. — Т. 14, № 2. — С. 344-352.
48. *Запорожан В. М.* Молекулярно-генетичні детермінанти виникнення мультифакторіальних захворювань: сучасний стан проблеми і перспективи дослідження / В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, Ю. М. Ворохта // *Інтегративна антропологія.* — 2008. — Т. 12, № 2. — С. 4-7.
49. *Бажора Ю. И.* Молекулярная эпидемиология: ее значение в современной медицине / Ю. И. Бажора // *Інтегративна антропологія.* — 2008. — № 1. — С. 4-10.
50. *Запорожан В. Н.* От геномики — к генетической медицине / В. Н. Запорожан, Ю. И. Бажора // *Інтегративна антропологія.* — 2007. — № 2. — С. 4-11.
51. *Park S. K.* Risk assessment and pharmacogenetics in molecular and genomic epidemiology / S. K. Park, J. Y. Choi // *J. Prev. Med. Public. Health.* — 2009. — Vol. 42, N 6. — P. 371-376.

Розділ 3. Від клінічної епідеміології до молекулярної епідеміології

FROM CLINICAL EPIDEMIOLOGY TO MOLECULAR EPIDEMIOLOGY

There are discussed the precondition of the molecular-epidemiological researches and development of a new scientific direction — molecular epidemiology. The differences between molecular epidemiology and other fields of molecular biology are given.

3.1. Розвиток молекулярної епідеміології та її методологія

Термін «молекулярна епідеміологія» був запропонований у 1993 р., але протягом останніх років зміст, що в нього вкладався дослідниками, еволюціонував і на різних етапах розвитку дисципліни вельми різнився. Так, одне з найбільш поширених визначень молекулярної епідеміології звучить так: «молекулярна епідеміологія — це наука, що вивчає роль потенційних генетичних і середовищних факторів ризику, обумовлених на молекулярному рівні, за етіологією, поширенням і профілактикою захворювань у родині й у популяції» [1; 3]. У бібліографічному класифікаторі MESH молекулярна епідеміологія визначається так: «застосування молекулярної біології для вивчення епідеміологічних проблем, дослідження особливостей змін ДНК для виявлення можливих канцерогенів і використання молекулярних маркерів для прогнозування того, які індивідууми мають найбільш високий ризик захворювання» [2]. Вже цитоване вище висловлювання М. Slatтер вказує на інтегративний характер дисципліни та необхідність поєднання молекулярно-біологічних, клінічних й епідеміологічних підходів при розв'язанні наукових і практичних завдань, що постають перед дослідником [3].

Молекулярна епідеміологія є однією з найновіших галузей знання, яка утворилася шляхом інтеграції молекулярної біології в традиційні епідеміологічні дослідження.

Завдання молекулярної епідеміології є досить різноманітними і включають:

1. Описові й аналітичні дослідження для оцінки взаємодії організму і навколишнього середовища при різних захворюваннях.

2. Розробку профілактичних програм для контролю бактеріальних, паразитарних і вірусних розладів за допомогою молекулярної діагностики.

3. Профілактику неінфекційних захворювань і генетичних порушень шляхом оцінки ризику і визначення чутливих індивідуумів за допомогою генетичного скринінгу.

Для досягнення цих цілей необхідно дотримуватися кількох умов, а саме: наявність сучасного біотехнологічного устаткування, реактивів і витратних матеріалів для аналізу потенційно генетичних і середовищних факторів ризику, а також підготовлених у достатній кількості фахівці у галузі молекулярної епідеміології для застосування методів молекулярної біології в епідеміологічних дослідженнях і практиці організації охорони здоров'я.

Лише невелика кількість країн бере участь в молекулярно-епідеміологічних дослідженнях у зв'язку з нестачею підготовлених фахівців й обмеженим доступом до необхідного устаткування та витратних матеріалів.

У 1993 р. була створена «Міжнародна ініціатива для розв'язання задач молекулярної епідеміології» (IMETAf) з метою допомогти різним країнам створити умови для проведення досліджень у галузі моле-

кулярної епідеміології [4]. Головною метою ініціативи було сприяння розвитку та впровадженню програм у галузі молекулярної епідеміології в усіх регіонах світу, поширення передових біотехнологій для наукових досліджень та їх інтеграція в епідеміологію, медицину і суспільну охорону здоров'я для профілактики захворювань. За цей час країнами, що виступили з ініціативою, проведено сотні епідеміологічних досліджень як у розвинутих країнах, так і у країнах, що розвиваються. Втім, більшість цих досліджень присвячено, насамперед, вивченню молекулярної епідеміології соціально значущих інфекційних захворювань: туберкульозу, ВІЛ/СНІДу, малярії, нозокоміальної хірургічної інфекції, вірусних гепатитів тощо. Це пояснюється, насамперед, зацікавленістю країн-донорів та дотуючих фондів-грантодавців у питаннях епідеміологічної безпеки.

Для розрізнення напрямків молекулярної епідеміології був запропонований термін «генетична епідеміологія», який деякі фахівці сприймають як прямий синонім визначення «молекулярна епідеміологія», а інші вважають, що на відміну від генетичної епідеміології, молекулярна епідеміологія вивчає як гени, що відповідають за ризик виникнення захворювання, так і геном інфекційних агентів та їхній зв'язок із факторами середовища. Генетична епідеміологія займається лише захворюваннями, що безпосередньо детермінуються окремими функціональними ділянками геному людини. Деякі автори поширюють термін «генетична епідеміологія» також на антропологічні дослідження [5; 6].

Загалом, генетична епідеміологія розглядається як дисципліна, що тісно пов'язана з традиційною епідеміологією, але фокусується на сімейних випадках захворювань і вивчає вплив як генетичних, так і негенетичних факторів. Залежно від того, який алель певного гена містить геном індивідуума, реалізується той чи інший ризик виникнення захворювання. При цьому пошук асоціації між варіантами гена та захворюванням, яке є предметом дослідження, суттєво не відрізняється від пошуку де-

термінант виникнення захворювання у традиційній епідеміології [7].

За допомогою молекулярної епідеміології стає можливим оцінити спектр молекулярних маркерів — від генів чутливості до біологічних маркерів впливу, маркерів передхвороби, діагностичних маркерів [8]. При цьому як генетичний маркер виступає варіабельна послідовність ДНК, яка має неваріабельний компонент, що є специфічним за локалізацією в геномі, та варіабельний компонент, який є достатньо гетерогенним для ідентифікації відмінностей між двома індивідами та між гомологічними хромосомами у індивіда. Генетичні маркери відіграють важливу роль у картуванні генів. Мінливість послідовності нуклеотидів, як правило, не має функціональних наслідків.

Молекулярні тести повинні оцінюватися за параметрами їх валідності, чутливості та специфічності перед тим, як використовувати їх в епідеміологічних дослідженнях. Крім того, важливими є питання доступності відповідних зразків біологічного матеріалу, етичні й економічні питання [9].

Втім, молекулярна епідеміологія заснована на принципах класичної епідеміології, використовує такі ж методи дослідження (найчастіше когортні дослідження і дослідження «випадок-контроль»). Залежно від поставлених цілей молекулярна біологія використовує біотехнології для визначення поширеності захворювання у популяції (описова епідеміологія) і для оцінки потенційних етіологічних детермінант (аналітична епідеміологія).

Методологія молекулярної епідеміології суттєво не відрізняється від методології класичної епідеміології. На думку експертів, використання молекулярно-епідеміологічних методів при некоректно сформованій вибірці може призвести до одержання недостовірних даних. Це пов'язано з тим, що прийнятна статистична похибка потребує чітких методологічних підходів при виборі показників для аналізу та формування вибірки. У сучасній епідеміології та біостатистиці розрізняють так звані

інформаційні похибки та похибки вибірки. Похибка вибірки може бути пов'язана з некоректним вибором показника або референтної групи (похибка Berkson'a) або з помилками при виборі інтактної (контрольної) та дослідної групи (так званий ефект «здорового волонтера»). Вона також обумовлена терміном/умовами дослідження виживання та змінами чутливості реагентів (діагностичних наборів) із часом (ефект Will–Rogers) [10].

Натомість інформаційна похибка, як правило, пов'язана із діагностичними помилками (похибка детекційної здатності методу) або з невірною інтерпретацією зовнішнього впливу чи захворювання. Крім того, причинами статистичної гетерогенності або збільшення похибки можуть бути індивідуальні особливості організму та вплив прихованих випадкових факторів [10; 11].

Таким чином, при проведенні молекулярно-епідеміологічних досліджень надзвичайно важливим є коректне планування дослідження та створення адекватної програми, формування вибірки та вибір маркерів/факторів, які досліджуються [1; 6; 10].

На відміну від загальної епідеміології, молекулярна епідеміологія дозволяє вивчити патогенез захворювання шляхом ідентифікації специфічних шляхів, молекул і генів, що впливають на ризик розвитку захворювання. Наприклад, генетичні маркери у більшому ступені, ніж сурогатна інформація (обтяжений спадковий анамнез), дозволяє охарактеризувати чутливість до захворювання [8; 11; 12].

Розширення арсеналу спеціальних, у тому числі клініко-лабораторних, методів дослідження у медичній практиці, яке одночасно супроводжувалося збільшенням номенклатури лікарських засобів, потребує оптимізації існуючих підходів до вибору лікувально-діагностичного алгоритму. Розвиток клінічної епідеміології та доказової медицини дозволяє підвищити ефективність прогнозування, діагностики і лікування різних захворювань, у тому числі соціально значущих, які визначають біль-

ше двох третин економічних і демографічних втрат у країні, суттєво впливають на рівень популяційного здоров'я та обмежують умови для нормального розвитку соціально-трудового потенціалу у державі [13].

Виникнення можливості використання новітніх технологій молекулярної біології для обстеження великих груп населення як на популяційному, так і на субпопуляційному рівні значно розширило перспективи сучасної медичної практики щодо впровадження високоефективних профілактичних програм. Молекулярна епідеміологія дозволяє проводити описові й аналітичні молекулярно-генетичні дослідження, спрямовані на оцінку складних взаємодій у системі «людина — довкілля» у розвитку тієї чи іншої хвороби. На цій підставі розробляються алгоритми профілактики неінфекційних мультифакторних і спадкових захворювань на підставі оцінки внутрішніх і зовнішніх факторів ризику та виявлення здатних до сприйняття індивідуумів шляхом молекулярно-генетичного скринінгу. Нарешті, за допомогою молекулярної епідеміології є можливою розробка найбільш ефективних методів профілактики для контролю бактеріальних, вірусних інфекцій і паразитарних інвазій на основі молекулярно-генетичних досліджень учасників системи «хазяїн — патоген» [1; 5; 6; 8; 13–15].

Об'єднання молекулярної біології та епідеміології дозволяє не лише краще зрозуміти етіологію соціально значущих хвороб і поліпшити їх молекулярну діагностику. При цьому одержані наукові дані безпосередньо впливають на підвищення якості медичної допомоги і дозволяють досягти якісно нового розвитку системи охорони здоров'я (табл. 3.1).

Сьогодні найбільшу кількість опублікованих праць присвячено молекулярно-епідеміологічним дослідженням в онкології [1; 16–20]. Вони містять інформацію про розподіл генетичного поліморфізму серед населення і показують, яким чином режим харчування і життєвого укладу пов'язані зі специфічними змінами у пухлині. Ці до-

Молекулярна епідеміологія як ланка зв'язку між генетичною медициною та практичною охороною здоров'я

Досягнення сучасної генетичної медицини	Розвиток напрямів молекулярної епідеміології
Розшифрування послідовності нуклеотидів у ДНК усіх хромосом і складання генетичних карт	Ідентифікація генетичних маркерів чутливості до різних захворювань
Розвиток біотехнологій і біоінформатики	Розробка молекулярних методів, придатних для популяційних досліджень
Визначення етичних, юридичних і соціальних проблем	Скринінг населення і розробка профілактичних заходів
Послідовність нуклеотидів у ДНК хромосом і каріотипування генів інших організмів, включаючи лабораторних тварин і вищих приматів	Розробка моделей захворювань і визначення факторів ризику у їх розвитку

слідження дозволили визначити фактори ризику і зрозуміти процес канцерогенезу, а також надали інформацію про поширення мутацій у пухлинних клітинах серед населення у різних регіонах, їх зв'язки із соціально-економічними й еколого-гігієнічними умовами проживання. Ця інформація в подальшому виступає підґрунтям для розробки персоніфікованих профілактичних заходів [1; 21; 22].

На сучасному етапі розвитку молекулярної епідеміології злоякісних новоутворень найбільше значення має оцінка генетично детермінованих процесів детоксикації ксенобіотиків, визначення макромолекулярних аддуктів, цитогенетичні дослідження на культурах лімфоцитів, визначення мутацій у тумор-супресорних генах, генотипні та фенотипні визначення різноманітних генетичних варіацій так званих генів-кандидатів. Одним із найбільш революційних явищ у молекулярній епідеміології було відкриття та впровадження у практику чисельних методів досліджень генетичного апарату: повногеномні дослідження найбільш поширених генетичних варіантів, визначення мРНК, поява протеомічних, метаболомічних і метаболомічних методів. Це дозволило визначати пухлинні зміни на хромосомному, ДНК-ому, РНК-ому і білковому рівнях. Водночас із впровадженням потужних діагностичних

технологій у медичну практику гостро постало питання про дотримання біоетичних норм і конфіденційності особистої інформації про здоров'я окремого індивідуума [23].

Найчастіше у молекулярній епідеміології використовуються трансверзальні дослідження (Cross-Sectional Studies), які дозволяють визначити зв'язок між впливом несприятливого фактора та ризиком виникнення захворювання на підставі популяційних досліджень на здорових суб'єктах. Залежно від того, які генетичні варіанти визначаються, у популяції прогнозується рівень захворюваності та смертності від певної патології. Як правило, у дослідженні виділяють дві групи порівняння — дослідну, яка підлягає впливу несприятливого фактора, та контрольну, для якої такий вплив не характерний. Ці групи є абсолютно порівнюваними за віковими, соціально-економічними та іншими характеристиками, які безпосередньо не пов'язані із експозицією шкідливого фактора. Трансверзальні дослідження, як правило, використовуються для визначення біомаркерів ефекту, що робить їх дуже корисними при вивченні канцерогенних впливів у еколого-гігієнічних дослідженнях [1; 24].

Ще одна перспективна сфера застосування трансверзальних молекулярно-епідеміологічних досліджень — донозологіч-

на діагностика [25–27]. Визначення ранніх біологічних ефектів, у тому числі оцінка цитотоксичності, хромосомних алтерацій, експресії ДНК, РНК і специфічних білків, порушення клітинного імунітету тощо, дозволяють з високою достовірністю визначити ймовірність розвитку патологічного процесу, а відтак і вжити відповідних лікувально-профілактичних заходів [1; 15; 26; 28]. Відносна нескладність визначення цих маркерів у біологічних середовищах організму та формених елементах крові дозволяє використовувати їх як модельні при визначенні впливу небезпечних факторів на інші клітини та тканинні структури організму, які є менш доступними для аналізу. Цінним джерелом інформації є також дослідження біопатів шкіри, шийки матки, товстої кишки, інших епітеліальних тканин, у тому числі злущених епітеліоцитів у сечі, менструальних виділеннях, мокротинні, калі, аспіраті проток молочної залози тощо. Зрештою, такий дизайн дослідження дозволяє визначити молекулярно-генетичні предиктори виникнення відповідної патології [29–31].

Найчастіше використовується методологічний підхід пошуку гена-кандидата, який кодує білок, тісно пов'язаний з патогенезом захворювання. Впровадження повногеномної гібридизації та інших методів дослідження дозволяє оцінити стабільність геному, а використання класичних генотоксичних тестів, гематологічних, імунологічних біомаркерів — підтвердити наявність негативних змін на донозологічному рівні [15; 28]. Важливим є також проведення епігенетичних досліджень [30]. У практиці молекулярної епідеміології наявність метильованих ділянок ДНК і зміна довжини теломерів є досить чутливим маркером експозицій до шкідливих факторів [30; 32].

В окремих випадках, коли дослідження сфокусоване не на наслідках несприятливого середовищного впливу, а на оцінці безпосередньо факторів ризику, можна застосовувати модель «випадок-контроль» [33]. Такий методологічний підхід дозволяє проаналізувати значну кількість випадків захворювання (тобто вже реалізова-

ного ризику) за короткий термін часу. До того ж дизайн «випадок-контроль» може бути з успіхом використаний як у шпитальних, так і популяційних дослідженнях [1; 13–15; 33]. Проте якщо популяційні дослідження здебільшого присвячені аналізу зустрічальності певної патології у попередньо обраній вибірці протягом певного терміну часу та рандомізовано обраній контрольній групі, сформованій за принципом «ідентичних пар», то шпитальні дослідження дозволяють аналізувати частоту звернень і клініко-анамнестичні характеристики на базі окремих лікувально-профілактичних закладів. Дослідження у галузі молекулярної епідеміології, які проводяться на базі шпиталів і лікарень, нерідко дають змогу виконати детальний аналіз причин і характеру поширення нозокоміальних інфекцій [34]. Прикладом є дослідження британських авторів, які довели, що нещодавні сенсаційні заяви лівійського уряду про буцімто умисне зараження дітей ВІЛ-інфекцією та вірусним гепатитом медиками з Болгарії є інсинуацією, тому що штами, які викликали цей епідемічний спалах, циркулювали у лікарні та її амбулаторіях за 10 років до приїзду в Лівію іноземних спеціалістів [35]. Перевагою шпитальних досліджень є сприятливі умови для проведення складних лабораторних випробувань на базі лікувально-профілактичного закладу, а також значна концентрація науково-практичного потенціалу в таких установах [36].

Однак такий дизайн має і певні недоліки. Перш за все, при оцінці інтенсивності впливу несприятливого фактора у дослідженнях «випадок-контроль» використовуються в основному опитувальники, що висуває додаткові вимоги до кодування дистракторів і зменшення інформаційної похибки [33; 36]. Втім, використання молекулярно-генетичних маркерів, як правило, дає змогу визначити факт експозиції та спрогнозувати виникнення патології, яка досліджується. Важливим моментом в організації дослідження за дизайном «випадок-контроль» є обмежений час, що нерідко не дозволяє зареєструвати ефект від впливу відповідного фактора. Втім, для

більшості чинників довкілля, зокрема ксенобіотиків (пестициди, діоксини, поліхлоровані біфеноли, тяжкі метали) та інфекційних агентів, існує можливість ретроспективної реконструкції впливу за даними токсикологічних, токсикогенетичних і серологічних тестів [37; 38].

При дослідженні маркерів генетичної чутливості до злоякісних новоутворень за допомогою дизайну «випадок-контроль» досягається значна економія коштів порівняно з іншими методологічними схемами. Основним інструментом є оцінка SNP, але при використанні цього методу збільшується ймовірність хибного тлумачення поширення відповідних «функціонально змінених» алелей у популяції, що утруднює розробку заходів профілактики у групі ризику [39].

Крім суто генетичних методів, у скринінгових дослідженнях можуть використовуватися й інші методи, у тому числі оцінка метаболічного фенотипу, репаративної здатності ДНК тощо [39]. Зазвичай якісна та кількісна оцінка фенотипних ознак є невід'ємною частиною діагностичного процесу, що дозволяє поєднувати різні підходи при пошуку маркерів чутливості [39; 40]. На відміну від протеомного аналізу, який дозволяє визначити вельми мінливі показники, які тісно пов'язані з перебігом хвороби, аналіз генетичних маркерів дозволяє перейти на якісно новий рівень, коли маркер є сталим і мало змінюється в часі. У зв'язку з цим дослідження генотипу має суттєві переваги перед рутинною оцінкою фенотипних проявів [41].

Прикладом використання дизайну «випадок-контроль» є нещодавно виконане дослідження ролі репаративної здатності ДНК у визначенні ризику виникнення аденокарциноми [39]. Дослідження було проведене на культурі лімфоцитів, одержаних від обстежених осіб. Автори оцінювали чутливість лімфоцитів до мутагенів при реакціях реактивації клітини-хазяїна. Були встановлені суттєві відмінності щодо репаративної здатності ДНК у дослідній і контрольній групах, однак при інтерпретації одержаних даних слід брати до уваги той факт, що використання лімфоцитарної мо-

делі для оцінки репаративної здатності ДНК може не повною мірою відповідати реальній картині, тому що на результати лабораторних тестів можуть впливати особливості патоморфозу при онкологічному захворюванні [42].

Використання підходів молекулярної епідеміології дозволяє також визначити значущість генетичних та екологічних факторів у генезі кожної окремої нозоформи. Так, ідентифікація злоякісних новоутворень різної етіології за допомогою молекулярно-генетичних методів сприяє кращому розумінню особливостей канцерогенезу та дозволяє розробляти цільові профілактичні програми для груп ризику (наприклад, використання гормональної хіміопрофілактики у жінок із високим ризиком ER-позитивних пухлин) [43; 44]. Слід зазначити, що, як правило, для проведення відповідних молекулярно-генетичних досліджень необхідно виконувати інвазивні маніпуляції, зокрема біопсію внутрішніх органів, що потребує відповідного обладнання. Таким чином, застосування підходів молекулярної епідеміології неможливе без розвинутої мережі лікувально-профілактичних закладів, які надають спеціалізовану та висококваліфіковану медичну допомогу [45].

При дослідженні виживання хворих на онкопатологію генетичні маркери можуть використовуватися як додаткові предиктори, що дозволяє індивідуалізувати плани лікування пацієнтів групи ризику [33]. Втім, дослідження «випадок-контроль», зазвичай, є недостатньо тривалими для адекватного моніторингу клінічних наслідків у катамнестичному періоді, а ретроспективним дослідженням динаміки виживання, які спираються на аналіз медичної документації, як правило, бракує об'єктивності [46].

У проспективних когортних дослідженнях дані про експозицію шкідливого фактора та біологічні зразки одержують від практично здорових індивідуумів, за якими проводиться тривале спостереження [47]. Основним недоліком цього методологічного підходу є висока вартість досліджень і складність формування вибірки з

подальшим “follow-up” контролем, однак він дозволяє найбільш точно оцінити коректність прогнозу щодо виникнення патології в того чи іншого індивідуума. Когортні дослідження мінімізують хибні тлумачення інтенсивності експозиції шкідливого фактора, діагностичні помилки, їх результати є найбільш достовірними і мають вищий рівень доказовості, ніж дослідження «випадок-контроль» або «серія випадків». Крім того, на відміну від досліджень «випадок-контроль», когортні дослідження дозволяють відстежувати не одну нозоформу, а декілька, що дає змогу краще зрозуміти роль тих чи інших молекулярно-генетичних предикторів і зрештою визначити оптимальний алгоритм прогнозування та профілактики соціально значущої патології.

Однак на практиці досліднику нерідко доводиться мати справу із дослідженнями змішаного дизайну [33; 48]. Так, проспективне когортне дослідження в подальшому може трансформуватися шляхом виділення субкогорт і відповідного контролю у дослідження дизайну «випадок-контроль». При такій трансформації важливо, щоб усі лабораторні тести виконувалися у тій самій лабораторії, за тими ж методиками, протягом усього періоду виконання роботи. Для збільшення точності одержаних результатів рекомендується повторювати сумнівні тести, а також ретельно ставитися до формування вибірки і контролю досліджуваних показників під час дослідження.

В окремих випадках припустимо використовувати дослідження типу «серія випадків» [49]. Основним недоліком цього підходу є відсутність контролю. Таким чином, визначені у подібних серіях закономірності потребують подальшої перевірки у когортних дослідженнях або дослідженнях змішаного дизайну. Як правило, аналіз результатів дослідження серії випадків зводиться до розрахунку співвідношення шансів негативного впливу/наслідку та інших простих ймовірнісних оцінок.

Деякі дослідники вважають, що навіть поодинокі випадки можуть бути важливим джерелом інформації щодо міжгенних і генно-середовищних взаємодій [50]. Але

слід пам'ятати, що такі дослідження не дозволяють оцінити відносний ризик виникнення захворювання і мають переважно пошуковий характер, тобто можуть бути використані на попередніх етапах проведення більш якісних молекулярно-епідеміологічних досліджень.

У літературі обговорюються перспективи застосування РКД, які є «золотим стандартом» у клінічній епідеміології [51]. Найголовнішою перевагою таких досліджень перед іншими є здатність мінімізувати випадкові впливи, у тому числі суб'єктивного характеру, та висока відтворюваність. Однак на практиці при проведенні епідеміологічних досліджень РКД використовуються обмежено. Це пов'язано з тією обставиною, що при проведенні екологічних досліджень («оцінка шкоди») формування контрольної групи утруднюється як з біоетичних міркувань, так і через відсутність чіткої інформації про кофактори впливу та характер дії основних факторів.

Для зменшення витрат при проведенні досліджень у галузі молекулярної епідеміології запропоновано декілька підходів [52; 53]. Двоетапне формування вибірки використовують для зменшення витрат на проведення лабораторних досліджень. На першому етапі проводять когортне або, рідше, дослідження «випадок-контроль» для з'ясування базової інформації щодо експозиції шкідливого фактора, при цьому визначення біомаркерів не проводиться. На другому етапі проводяться визначення біомаркерів й узагальнюючий статистичний аналіз за допомогою нелінійних оцінок. Інший підхід демонструє так зване «споріднене» когортне дослідження, коли когорті складають близькі родичі (зазвичай сібси) [54].

При виборі біологічного матеріалу для потреб епідеміологічного скринінгу, як правило, спираються на клінічні пріоритети [55]. Потрібно забезпечити уніфікацію відбору матеріалу відповідно до єдиного протоколу, розробити сталу систему управління даними. При формуванні баз даних необхідно водночас забезпечити конфіденційність особистої інформації та надати можливість відстежувати результати на подальших етапах дослідження.

Найчастіше для потреб молекулярно-епідеміологічних досліджень використовують такі біологічні об'єкти, як цільна кров та букальний зскрібок [56–59]. В останні роки замість венепункції широко використовують кров, взятую з пальця, що дозволяє зменшити вартість тестування [56]. Досить часто об'єктом дослідження є сеча, яка може містити епітеліоцити [57], рідше проводиться аналіз мокротиння [58]. При виконанні хірургічних втручань, як правило, беруть проби тканин, які є цінним джерелом інформації для подальших досліджень у галузі молекулярної епідеміології [59].

3.2. Перспективи застосування методологічних підходів молекулярної епідеміології в Україні

Сьогодні ми маємо справу із катастрофічними темпами депопуляції України [60; 61]. Негативний природний рух населення, збільшення захворюваності на основні класи соматичної та інфекційної патології, зростання чисельності осіб з декомпенсованими формами захворювання, неухильне погіршення репродуктивного здоров'я і жінок, і чоловіків, збільшення кількості дітей із відхиленнями у стані здоров'я поряд з посиленням зовнішньої міграції, в якій переважає еміграція, — усе це може призвести до того, що вже через 25 років мешканців України стане удвічі менше, а приблизно 2080 р. помре останній українець [61].

В Україні протягом 1999–2003 рр. реалізовувалася Цільова комплексна програма генетичного моніторингу [62], метою якої було спостереження за інтенсивністю та характером впливу на здоров'я населення мутаційних процесів, зумовлених дією навколишнього середовища та іншими факторами, для розробки системи первинної профілактики спадкової патології.

Відповідно до цієї програми в Україні було створено мережу державної служби генетичного моніторингу, розроблені типові штатні нормативи для ведення центрального, обласних, міських, районних та

спеціалізованих реєстрів, здійснено перехід до реєстрації вроджених вад розвитку і спадкової патології згідно з МКХ-X. Започаткування ведення центрального реєстру основних нозологічних форм генетичної патології (природжених аномалій, мимовільних викиднів, неплідних шлюбів) дозволило закласти підвалини для подальшого розвитку медичної генетики в Україні. Втім, слід зазначити що питання молекулярної епідеміології окремих нозоформ у даній програмі не розглядалися, а сам дизайн програми застарів на 12–15 років. Втім, реалізація цільової комплексної програми генетичного моніторингу безперечно мала вельми позитивні наслідки для системи охорони здоров'я України [63].

У сучасних умовах є необхідним поєднання позитивного досвіду, отриманого у попередніх масштабних національних проектах, із втіленням найбільш перспективних здобутків сучасних медичних технологій, насамперед біотехнологій і принципів генетичної медицини. На жаль, більшість медико-генетичних лабораторій в Україні не спроможні виконувати дослідження поліморфізму генів, одиничних нуклеотидів, поширеності інших молекулярно-генетичних маркерів [64]. Як правило, українським фахівцям доступні лише клініко-генеалогічні, цитогенетичні (кількісний і якісний аналіз хромосом із застосуванням диференційованих методів забарвлення), імуногенетичні (антигени системи HLA I і II класу) і дерматогліфічні дослідження, метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) для визначення генетичних маркерів схильності до деяких мультифакторних захворювань [62; 64].

Сьогодні найбільші економічні та демографічні втрати в Україні пов'язані із проблемами неплідності жіночого та чоловічого населення, високої поширеності онкологічної патології, серцево-судинних захворювань, травм та отруєнь [60; 61; 65].

Злоякісні новоутворення є однією з найнебезпечніших медико-біологічних і соціально-економічних проблем [66]. Захворюваність і смертність від раку постійно зростають у зв'язку з несприятливою екологічною ситуацією та значним по-

старішанням населення. Протягом життя кожен третій-четвертий чоловік і кожна п'ята жінка можуть захворіти на рак. Рак є причиною більш як 15 % усіх летальних випадків і поступається за цим показником лише серцево-судинним захворюванням. За оцінками ВООЗ, до 2020 р. 20 млн нових випадків захворювань на рак виявлятимуться щороку. В Україні кожного року діагностується понад 150 тис. нових випадків злоякісних новоутворень. У структурі захворюваності чоловічого населення перші 5 місць посідають злоякісні пухлини легень, шлунка, шкіри, передміхурової залози, прямої кишки, у жінок — рак молочної залози, шкіри, тіла матки, шлунка, ободової кишки [63]. За останнє десятиліття в Україні відзначається стійке зростання онкологічної захворюваності з 310,0 випадків на 100 тис. населення у 1995 до 328,5 у 2004 р. (у середньому на 0,6 % щороку). За розрахунками спеціалістів до 2020 р. кількість тих, хто вперше захворів на рак, в Україні може зрости до 200 тис. Майже 90 тис. жителів України щороку помирають від раку, причому 35 % померлих від раку — особи працездатного віку. Через запізнілу діагностику онкологічних захворювань залишається високим відсоток (38–40 %) онкологічних хворих, які помирають протягом одного року після встановлення діагнозу. У розвинених країнах світу цей показник не перевищує 30 %. Сьогодні в Україні проживає майже 800 тис. людей, які свого часу перенесли онкологічне захворювання [66].

Враховуючи високу суспільну значущість проблеми, у 2002 р. було затверджено Державну програму «Онкологія» на 2002–2006 рр. (Постанова Кабінету Міністрів України від 29.03.2002 р. № 392) [67]. Збільшення фінансування галузі, передбачене цією Програмою, дозволило покращити стан забезпечення онкологічних хворих медикаментами й окремих онкологічних закладів лікувально-діагностичним обладнанням. У результаті цього зросла кількість охоплених спеціальним лікуванням онкологічних хворих (62,4 % від кількості вперше виявлених хворих), що, у свою чергу, забезпечило стабілізацію смертності від

злоякісних новоутворень на рівні 184–190 випадків на 100 тис. населення при постійно зростаючій захворюваності.

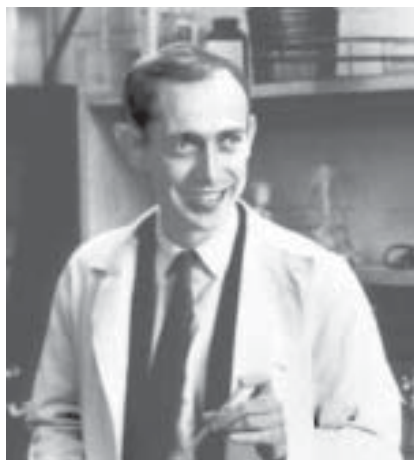
Втім, питанням молекулярної епідеміології найбільш поширених злоякісних новоутворень у цій програмі увага не приділялася, що не дозволяє адекватно оцінити ризик виникнення тієї чи іншої патології у різних регіонах, а відтак і проводити профілактичну роботу, насамперед шляхом скринінгових досліджень у цільових групах.

В Україні станом на 1 січня 2006 р. зареєстровано 1 006 652 хворих на цукровий діабет, вперше виявлено за 2005 р. 101 062 таких хворих [68]. У значній кількості цих осіб розвиток патології можна було б передбачити за допомогою молекулярно-генетичних досліджень, що дало б змогу заздалегідь вжити запобіжних засобів.

Отже, сьогодні молекулярна епідеміологія є галуззю профілактичної медицини, яка швидко розвивається [5; 69]. Впровадження її методів у практику вітчизняних наукових досліджень дозволить значно покращити ефективність превентивних заходів в Україні та більш раціонально витрачати кошти при плануванні лікувально-профілактичних заходів.

3.3. Молекулярна епідеміологія у клінічній медицині

Швидкий розвиток біотехнологій привів до того, що у 2001 р. був остаточно розшифрований геном людини. З того часу накопичений багатий матеріал щодо зв'язку окремих генів з тими чи іншими захворюваннями, визначені найбільш інформативні генетичні маркери [70; 71]. Ще до 1995 р. було картовано більше 500 генів простих менделівських хвороб (у тому числі муковісцидозу, спадкових нервово-дегенеративних захворювань) і більше 60 із них було позиційно клоновано [72–79]. Сьогодні світова база OMIM (On-line Mendelian Inheritance on the Man) вже містить понад 2500 генів-кандидатів для 3659 захворювань [77]. Успіхи генетики сприяють трансформації медицини і біо-



1953 р.



2009 р.

Рис. 3.1. Нобелівський лауреат Джеймс Уотсон — власник першого персонального геному

технологій, з'являються нові лікарські засоби та методи діагностики. На сучасному етапі розвитку медична генетика вступає до нової фази свого розвитку — основна увага приділяється проблемі картування генів, що контролюють «комплексні ознаки», прояв яких залежить від взаємодії багатьох факторів, як генетичних, так і негенетичних [76; 78]. Ці гени обумовлюють ризик виникнення ішемічної хвороби серця, цукрового діабету, гіпертонічної хвороби, психічних розладів, злоякісних новоутворень [79].

У червні 2007 р. James Watson (рис. 3.1), один із співавторів відкриття структури молекули ДНК, став першим власником персонального геному [80]. Презентація двох DVD-дисків, що містять інформацію про повну послідовність генів 79-річного лауреата Нобелівської премії, відбулася у місті Хьюстон під проводом компаній Human Genome Sequencing Center і 454 Life Sentences. Вартість геному — близько одного мільйона доларів, а на його розшифровку було витрачено майже два місяці. Теоретично з цього моменту власником персонального геному може стати будь-хто на Землі. Проте ще наприкінці 90-х рр. XX ст. вже була сформована концепція так званого генетичного паспорта. Прихильники цієї ідеї вважають, що індивідуальна профілактика, яка ґрунтується на генетичному тестуванні, дозволить лише на теренах США

щороку запобігти 100 000 прогнозованих смертей, 3 млн випадків лікарських помилок, 2,5 млн алергічних реакцій на лікарські засоби, 2,5 млн випадків непотрібних хірургічних втручань. Вважається, що генетичний паспорт має стати невід'ємною частиною персональної медичної документації і супроводжувати кожну людину протягом усього життя, з моменту народження до старості [12–15].

Таким чином, є підстави вважати, що після завершення програми International Human Genome Project на людство чекає революція у медичній науці та практиці. Можна говорити про початок ери генетичної медицини [80–82; 84–89].

Які ж перспективи відкриває цей сучасний напрямок розвитку медицини? Перш за все, завдяки останнім досягненням молекулярної епідеміології, відкрилася реальна можливість розвитку індивідуалізованих схем профілактики та керування популяційним здоров'ям [10; 15; 17]. При цьому профілактика може проводитися більш ефективно на всіх стадіях профілактичного процесу. Знання індивідуальних генетичних факторів ризику допоможе запобігти виникненню небезпечних захворювань при проведенні генетичного консультування осіб, що беруть шлюб. Крім того, при веденні вагітних і проведенні диспансеризації жінок репродуктивного віку виникне можливість диференційованого засто-

сування превентивної терапії — лікування захворювання на досимптомній стадії. Ці ж підходи можуть бути застосовані і при створенні індивідуалізованих програм вторинної профілактики (тобто діагностичного скринінгу) [79; 81; 82; 89]. Наявність генетичних ризиків може потребувати більш раннього застосування спеціалізованих методів діагностики — наприклад, жінки, що мають гени, які детермінують розвиток раку молочної залози, потребують більш інтенсивного спостереження у молодому віці, у тому числі і проведення мамографічних досліджень. Це стосується і цукрового діабету, і системних колагенозів, і атеросклерозу та інших видів соціально значущої патології. Нарешті, знання індивідуальних генетичних особливостей може допомогти при розробці індивідуальних схем лікування (третинна профілактика). Так, в осіб з генетично детермінованим дефіцитом ендогенного синтезу NO — універсального первинного месенджера — більш ефективними порівняно з іншими антиангінальними засобами будуть органічні нітрати [87]. У пацієнтів із генетично-детермінованими змінами у функціонуванні юктагломерулярного апарату будуть нефективними інгібітори ангіотензин-конвертуючого ферменту [87]. Корисними можуть бути дані про геном людини і при обранні цитостатичної терапії у тих осіб, в яких все ж виникло злоякісне новоутворення і які потребують хіміотерапії [88]. У людини, яка має аномальні гени, що відповідають за прискорення процесів старіння, виникає можливість активного медикаментозного втручання для корекції наявних дефектів [89; 90]. Крім того, при доборі персоналу на виробництва зі шкідливими та небезпечними умовами праці генетичний паспорт може бути однією з підстав, що обмежують працевлаштування осіб із підвищеним ризиком виникнення певних професійних хвороб, онкологічної, ендокринної, кардіоваскулярної патології тощо [91].

Перспективи застосування генетичного паспорта існують і для хірургічних спеціальностей. Поряд із можливістю більш ефективно використовувати засоби консер-

вативної терапії хірургічної патології, виникає перспектива оптимізувати профілактику адгезивних ускладнень після внутрішньочеревинних втручань, післяопераційних коагулопатій тощо [92; 93].

Власне кажучи, будь-яке порушення стану здоров'я є генетично детермінованим. Втім, фенотипний прояв наявного ризику може бути різним, і залежно від способу життя, екологічної ситуації, рівня соціальної адаптації, стану ресурсної бази системи охорони здоров'я реалізовуватися у тій чи іншій мірі.

Як було зазначено вище, в організмі детоксикацію ксенобіотиків здійснюють спеціальні ферментні системи і мембрано-асоційовані рецептори, які регулюють їх активність (так звані лікометаболізуючі ензими [79; 84; 86; 91; 94–100]). Процес детоксикації зазвичай включає дві послідовні фази. Спочатку чужорідні сполуки, які надходять в організм (канцерогени, ліки, промислові отрути та інші альтеруючі сполуки), активуються за допомогою ферментів сімейства цитохромів P450 або мікросомальних епоксидгідролаз (mEPOX). Потім утворюються короткоживучі проміжні електрофільні метаболіти, що мають генотоксичні властивості (фаза 1) [84; 86]. Ці проміжні метаболіти за допомогою ферментів сімейств глутатіонілтрансферази (GSTM), УДФ-глюкуронсульфотрансфераз (UDF), N-ацетилтрансфераз (NAT) перетворюються на водорозчинні нетоксичні продукти і виводяться з організму (фаза 2) [86]. Сьогодні відомо більше 200 «генів зовнішнього середовища» [95]. Для багатьох з них виявлено генетичний поліморфізм, що впливає на функціональну активність їхніх алелів. Генетичні дослідження таких генів свідчать про значні міжпопуляційні та міжетнічні розходження їх ального поліморфізму, що відбиває своєрідність умов проживання, харчування та способу життя населення в різних регіонах світу [86; 69; 101–169]. У кожній групі ферментів, що беруть участь у детоксикації, виявлені мутантні ізоформи, функція яких може бути порушена порівняно з нормальними алелями. Надалі з'ясувалося, що ці функціонально неповноцінні алелі

значно частіше трапляються в осіб із різними захворюваннями, в етіології яких важливу роль відіграють несприятливі екзогенні фактори [96].

Гени, що мають такі алелі, можна розглядати як «гени схильності» до тих або інших захворювань. Так, встановлено, що неповноцінний (нульовий) алель глутатіон-S-трансферази, що має протяжну делецію, представлений у гомозиготному стані майже у 40 % населення Росії [99]. Цей генотип особливо характерний для хворих на рак легень, хронічний обструктивний бронхіт і рак сечового міхура [86; 104; 105]. В осіб з таким генотипом на тлі алкоголізму частіше розвивається цироз печінки [103]. Існують численні відомості про високу схильність індивідів, гомозиготних за «ослабленим» алелем гена GSTP1, до різних пухлин, у тому числі до раку шкіри [117], і, як недавно встановлено, навіть до хвороби Паркінсона [117]. Це тяжке нейродегенеративне захворювання, обумовлене вибірковою загибеллю допамінергічних нейронів у підкіркових відділах мозку, особливо часто спостерігається в людей після хронічного впливу пестицидів [109; 110].

Останнім часом отримані цікаві дані стосовно участі гена GSTM1 в етіології та патогенезі ендометріозу [100–114] — загадкового мультифакторного захворювання, що, відповідно до світової статистики, трапляється майже у 10 % жінок білої раси [113]. Причина хвороби пов'язана з інвазією і пухлиноподібними розростаннями ендометрія поза порожниною матки, що спричинює тяжкі кровотечі, виражений больовий синдром і неплідність. В експериментах на мавпах, яким вводили субтоксичні дози діоксину, вдалося створити модель ендометріозу [115]. Доведено, що алелі окремих генів сприяють виникненню цієї хвороби і можуть впливати на ефективність її лікування [110; 114], тобто скринінг таких алелей дозволяє виявляти жінок, схильних до ендометріозу, і прогнозувати тактику медикаментозної терапії таких хворих.

Сьогодні відомо більше 200 генів-кандидатів, патологічні алелі яких можуть

бути предикторами розвитку ендометріозу [100]. Більшість із них тісно пов'язані з основними біохімічними патогенетическими ланками ендометріозу [100; 114], до яких належать взаємодія з ксенобіотиками, синтез катехоламінів, активність ферментів циклу трикарбонових кислот, б-окиснювання вищих жирних кислот та перекисне окиснення ліпідів, лабілізація лізосом, активація протеаз і мітохондріальних фосфоліпаз, активація запальних реакцій і депресія механізмів імунного захисту [100].

За даними Н. Ю. Швед (2006), «функціонально ослаблені» генотипи за генами *GSTT1* і *mEPHX1* асоційовані з розвитком зовнішнього генітального ендометріозу, ризик якого у жінок із генотипом *GSTT1* 0/0 збільшений в 2,3 рази, а при «повільній» формі *mEPHX1* — у 2,1 рази [114]. Поєднання «функціонально ослаблених» генотипів за генами 2-ї фази системи детоксикації *GSTM1* 0/0, *GSTT1* 0/0, *NAT2* S/S, *mEPHX1*S виявляє асоціацію з розвитком ендометріозу, ризик якого за наявності певного генотипу збільшується від 3 до 10 разів. За даними цього ж автора, генотипи *GSTM1* 0/0 + *GSTT1* 0/0 і *GSTT1* 0/0 + *NAT2* S/S достовірно частіше трапляються у жінок із тяжкими формами ендометріозу, а наявність певних генотипів за генами *CYP2E1*, *CYP19* і *GSTM1* асоційовано з різною ефективністю медикаментозного лікування ендометріозу. Крім того, наявність у пацієнток сполучень «функціонально ослаблених» генотипів *GSTM1* 0/0, *GSTT1* 0/0, *NAT2* S/S, *mEPHX1*S асоційовано з низькою ефективністю медикаментозного лікування ендометріозу. Поєднання нульових варіантів генів *GSTT1* або *GSTM1* із генотипами D/- або (TTTA)7(TTTA)_n за геном *CYP19* збільшують ризик низької ефективності гормонотерапії від 3,5 до 7 разів [114].

А. В. Голубева пов'язує виникнення аденоміозу із присутністю в генотипі делецій у генах *CYP19*, *CSTM1*, *CSTT1* [116]. Гетерозиготне носійство алеля del(TCT) у гені *CYP19* підвищує ризик розвитку аденоміозу в 2,5 рази, а поєднання нульових варіантів за генами *GSTM1*, *GTT1* — у 3,5 рази. Розвиток ендометріом яєчників асо-

ціюється з *ins/del* поліморфізмом гена *p53*, а гетерозиготне носійство інсерції у гені *p53* збільшує ризик розвитку ендометріом яєчників втричі, тимчасом як гомозиготне — у 10 разів. За її ж даними, генотип *GSTM1 0/0 + GSTT1 0/0* асоціюється зі збільшенням розвитку аденоміозу в 3,5 рази. Відзначається також збільшення частоти функціонально ослабленого генотипу *GSTM1 0/0 + 38TT1 0/0* при порушеннях менструального циклу у жінок з аденоміозом та ендометріомами яєчників. У пацієнток з ендометріомами яєчників і неплідністю частота делеції гена *GSTM1* у 4 рази перевищує таку у хворих з аденоміозом, а частота нульового генотипу за геном *GSTT1* майже втричі нижча. У жінок з «функціонально ослабленими» генотипами (*GSTM1 0/0 + GSTT1 0/0*, *Prp72Pro* і *ins/del*) відзначається більш високий середній рівень СА-125 [116].

Уже згадуваний ген *NAT-2*, відповідальний за синтез ферменту N-ацетилтрансферази-2, може сприяти виникненню раку молочної залози [117]. Цей ефект перебуває у прямій залежності від куріння у постменопаузальному періоді [49]. У жінок, гомозиготних за повільним алелем цього гена (повільні «ацетилятори»), куріння в молоді роки, і особливо у постменопаузальному періоді, майже у 20 разів збільшує ризик раку молочної залози. Водночас у жінок-курців з групи швидких «ацетиляторів» такої закономірності не відзначається. Настільки ж згубні наслідки для здоров'я можуть мати і патологічні алелі генів фази 1 — цитохромів й епоксидгідролаз [118; 119]. Так, особи, гомозиготні за незвичайно «повільною» формою мікросомальної епоксидгідролази (*mEPOX*), виявляють підвищену чутливість до дії тютюнового диму, різних оксидантів і сполук з посиленою продукцією вільних радикалів [119]. У них частіше, ніж у середньому в популяції, трапляються різні захворювання легень, у тому числі емфізема, хронічні обструктивні пневмонії.

У хворих на муковісцидоз — тяжке спадкове захворювання, спричинене мутаціями у гені хлорних каналів (*CFTR*) епітеліальних клітин [120], найчастіше ура-

жені легені. У таких хворих присутність у геномі «повільного» алеля гена *mEPHX* істотно збільшує шанси особливо тяжких легеневих порушень. Більш того, є підстави вважати, що за наявності дуже повільного алеля *mEPHX* порушення функції легень виникають раніше і виявляються важче, ніж при нормальних алелях цього гена [121].

Недавні дослідження фахівців з Овернського університету [122] переконливо довели, що тяжкість клінічного перебігу муковісцидозу, особливо його легеневих проявів, прямо залежить від присутності функціонально неповноцінних алелей *GSTM1* і *NAT-2*. Отже, тестування алельного поліморфізму генів *mEPHX*, *GSTM1* і *NAT-2* у хворих на муковісцидоз, так само як і алелей *GSTM1* і *NAT-2* у хворих на ендометріоз, можна використовувати для прогнозування клінічного перебігу і розробки раціональної терапії цих захворювань.

Таким чином, сьогодні вже достатньо ґрунтовних даних про те, що принаймні деякі «гени зовнішнього середовища» безпосередньо беруть участь у виникненні низки онкологічних (рак молочної залози, рак легень, рак сечового міхура й ін.) і неонкологічних (хронічний обструктивний бронхіт, емфізема легень, ендометріоз, хвороба Паркінсона тощо) захворювань [86]. Отже, популяційний скринінг алельних варіантів генів *GSTM1* і *NAT-2* є вельми актуальним [30].

Вивчення взаємодії «ген-довкілля» стало суттєвою перевагою молекулярно-епідеміологічних досліджень. Прикладом такої взаємодії можуть бути спонтанні передчасні пологи, спровоковані запаленням статевих шляхів. Поліморфізм гена *TNFA* асоціюється зі зростанням ризику передчасних пологів. Проте ризик зростає і за наявності бактерійного вагініту, який власне сам по собі і є таким, що підвищує ризик передчасних пологів (рис. 3.2).

Незважаючи на збільшення кількості достовірних результатів досліджень щодо ролі генетичних факторів у чутливості до інфекційних захворювань, розробка ефективної їх терапії залишається у далекій перспективі, бо потребує вивчення фарма-

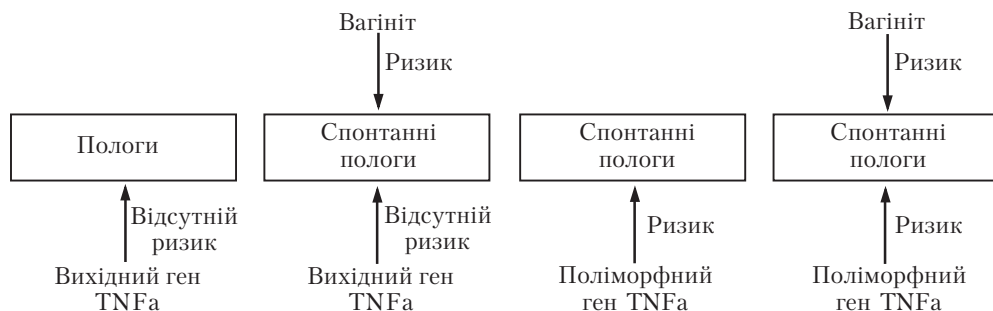


Рис. 3.2. Детермінація ризику спонтанних пологів

когеноміки новітніх лікарських засобів. Так, у чималій кількості ВІЛ-інфікованих людей при прийомі абакавіру спостерігається розвиток гіперчутливості (ГЧ) до цього лікарського засобу, що потребує його відміни. Встановлено, що причиною ГЧ є поліморфний ген пептидзв'язувальної ланки білка-70 теплового шоку. Попереднє генотипування пацієнтів на наявність цього варіанта гена скасовує проблему ГЧ і виявляє значний економічний ефект (рис. 3.3) [86].

Ще у 1999 р. Ф. Колінз навів приклади 11 розповсюджених захворювань, у відношенні яких створення генетичного профілю дозволило б розробити ефективні заходи профілактики: рак простати, рак легенів,

рак товстої кишки, хвороба Альцгеймера, ураження коронарних судин тощо. Проте нині не існує чіткої перспективи такої профілактики. При виявленні поліморфізму, який підвищує ризик розвитку хвороби, лікарі в основному рекомендують звертати увагу на зменшення впливу зовнішніх факторів (побуту), які потенціюють ризик, пов'язаний зі змінами у відповідному гені (рис. 3.4).

Розвиток геноміки стимулювало вивчення взаємодії «ген-ген» у геномі людини (хазяїна) у визначенні чутливості до інфекції і схильності до інших захворювань.

Така взаємодія (за типом епістазу) описана для ВІЛ-інфекції, при якій певні алелі

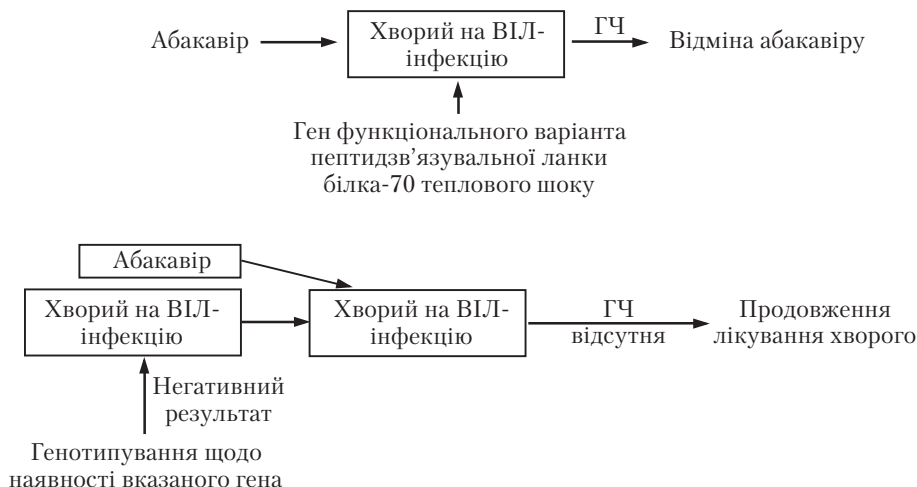


Рис. 3.3. Приклад застосування фармакогеномічних підходів при визначенні оптимальної схеми лікування

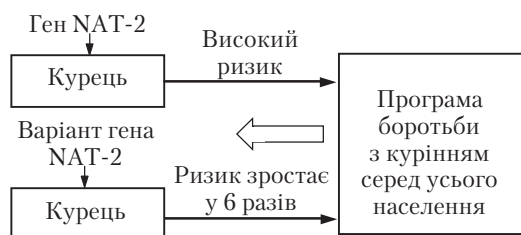


Рис. 3.4. Генетична детермінація раку легенів

HLA класу I асоціюються зі швидшим прогресуванням у СНІД тільки у тих випадках, коли пацієнт є носієм специфічних рецепторів на NK-клітинах (рис. 3.5).

Порушення регуляторних генетичних механізмів, що призводять до тяжких мультифакторних захворювань, можуть бути спровоковані не тільки функціонально неповноцінними алелями «генів зовнішнього середовища», але і мутаціями у структурних генах або генах-регуляторах, що забезпечують клітинний гомеостаз [123–126]. Деякі автори називають цю поліморфну групу генів генами-тригерами мультифакторних хвороб [127]. До них можна зарахувати онкогени, які відіграють вирішальну роль у виникненні пухлин [128], а також гени-супресори (наприклад р53) [129], мутації в яких призводять до активації відповідних онкогенів і вмикан-

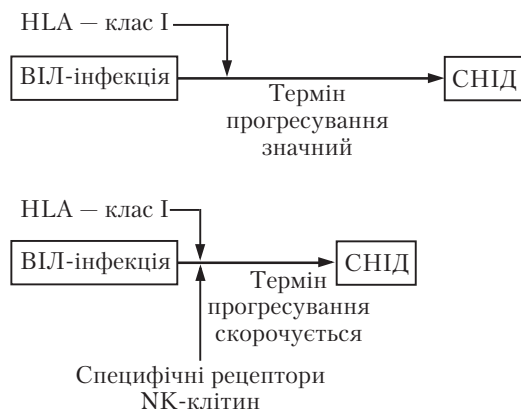


Рис. 3.5. Взаємодія «ген-ген» у визначенні схильності до ВІЛ-інфекції

ня ланцюга метаболічних реакцій, що викликають врешті-решт трансформацію клітин. Для багатьох десятків таких генів уже відомі несприятливі алельні варіанти, що призводять до захворювань [130]. Це, наприклад, ген рецептора вітаміна D3 (VDR-3), який характеризується наявністю поліморфізму в екзоні 9, причому близько 16 % представників білої раси є гомозиготами за функціонально неповноцінним алелем цього гена [131]. Саме в таких людей нерідко виявляється остеопороз, який надзвичайно часто виникає у жінок у менопаузальному і постменопаузальному періодах. У багатьох країнах світу відзначається збільшення частоти переломів кісток, пов'язаних з остеопорозом [132; 133]. Тільки у Великобританії щороку реєструється близько 50 тис. переломів шийки стегна і 40 тис. переломів хребта [134]. Багато з таких випадків викликані патологічною ламкістю кісток. Досимптоматична діагностика генетичної схильності до остеопорозу могла б сприяти його ефективній профілактиці.

Ген адренорецепторів (AR) — ще один приклад гена-тригера мультифакторних захворювань. Продукт цього гена належить до групи ДНК-поєднувальних білків, як і стероїдні рецептори, такі як рецептор вітаміну D, ретинолу і тиреоїдного гормону. Взаємодіючи з тестостероном і дегідротестостероном, продукт гена AR бере участь у регуляції розподілу клітин у передміхуровій залозі [135]. Для цього гена характерною наявністю у першому екзоні поліморфізму тринуклеотидного повтору CAG, що кодує глутамінову кислоту. Особи з високою активністю гена AR, тобто з низькою кількістю повторів CAG, у середньому мають більше шансів захворіти на рак простати, ніж чоловіки з більш протяжним CAG-ланцюгом [136]. Отже, тестування чоловіків за вказаним поліморфізмом допоможе виявити генетичну схильність до раку простати задовго до початку захворювання, що дозволить більш раціонально організувати його профілактику.

Досить добре вивчений ген-тригер ферменту метилентетрагідролатредуктази (MTHFR), точкова мутація якого в поло-

женні 677 С-Т зустрічається в гомозиготному стані приблизно в 5 % населення [137–139]. Наслідком цього поліморфізму може бути виражена гіпергомоцистемія [140], яка, у свою чергу, виявляє позитивну кореляцію з ішемічною хворобою серця, атеросклерозом і з виникненням природжених дефектів невральної трубки (*spina bifida*, мозкова грижа) у внутрішньоутробних плодів [141].

Поліморфізм у гені ангіотензинконвертуючого ферменту (АСЕ), пов'язаний з децією *Alu* послідовності в інтроні 16, трапляється у 30 % населення і розглядається як генетичний фактор схильності до інфаркту міокарда [142]. Спадкова схильність до атеросклерозу найчастіше асоційована з гомозиготністю за алелем *E2* гена *Apo*, що реєструється майже у 15 % представників білої раси [143].

NO-синтетаза належить до родини оксидоредуктаз. Сьогодні описано три ізоформи NO-синтаз: нейрональна ізоформа (*nNOS*, *NOS1*), макрофагальна, або індучибельна, ізоформа (*iNOS*, *NOS2*) й ендотеліальна ізоформа (*eNOS*, *NOS3*) [144]. Ці ферменти гомологічні лише на 50–60 % за своїм амінокислотним складом і кодуються різними генами, що знаходяться в різних хромосомах [145]. Тимчасом як ендотеліальна і нейрональна ізоформи є конституціональними різновидами ферменту, індучибельна NO-синтетаза експресується переважно при запаленні або інфекційному процесі [144].

Ген, що кодує *eNOS*, знаходиться у хромосомі 7q35-36 і складається з 26 екзонів [146]. Промотор гена *eNOS* містить кілька доменів, тобто може регулюватися кількома факторами транскрипції [147]. У 1995 р. A. D. Hingorani et al. [148] було запропоновано гіпотезу про наявність поліморфізму гена, який кодує *eNOS*, що обумовлює спадкові відмінності синтезу оксиду азоту та відповідно різну схильність до розвитку атеросклерозу. Вважається, що поліморфізм промотора гена впливає на транскрипцію мРНК, тимчасом як поліморфізм екзону визначає білкову структуру і активність ферменту. Дотепер залишається не до кінця зрозумілою роль поліморфізму

інтрону у регуляції синтезу різних ферментів, тому що ця частка не кодує білок і вирізається при формуванні зрілої РНК. Західними дослідниками описаний поліморфізм гена *eNOS* в 11 сайтах, 8 з яких пов'язують із можливим ризиком захворювань серця і судин [149; 150]. Найбільш дослідженим є поліморфізм *4a/b* 4-го інтрону, поліморфізм G894T (*Glu298Asp*) 7-го екзону і поліморфізм T786C промотора гена *eNOS* [151; 151].

Вітчизняні науковці дослідили поширеність поліморфізму T786@C промотора гена *eNOS* у хворих із гострим коронарним синдромом в українській популяції [152]. Було встановлено, що серед них приблизно втричі частіше, ніж у здорових донорів, виявляються гомозиготи з патологічним генотипом CC промотора гена *eNOS*. Отримані дані дозволяють припустити патогенетичне значення даного поліморфізму в розвитку гострого коронарного синдрому в українській популяції. Це припущення підтверджується експериментальними даними. В експерименті було показано, що наявність алеля С в положенні 786 промотора гена *eNOS* приводить до зниження його активності на 52 %, що є причиною зменшення синтезу та вивільнення оксиду азоту і виникнення дисфункції ендотелію [153]. У людей із патологічним генотипом промотора гена *eNOS* (CC і TC) спостерігають збільшення тонуусу вільцевих артерій, підвищену схильність до коронаростазу й атипової реакції вільцевих артерій на введення ацетилхоліну, що може бути основою для розвитку ішемічної хвороби серця та гострого коронарного синдрому [154]. Показано, що поліморфізм T786@C промотора пов'язаний з підвищеним ризиком рестенозів після стентування коронарних артерій [155].

Згідно з даними метааналізу, проведеного за результатами 7 досліджень, були відзначені достовірні відмінності щодо частоти поширеності гомозигот CC промотора гена *eNOS* серед здорового населення в різних етнічних групах (1,1 % — для азійського, 15,36 % — для неазійського населення). Дані літератури стосовно ролі цього поліморфізму в розвитку ішемічної

хвороби серця та її гострих проявів суперечливі [156].

С. А. Тихонова проаналізувала зустрічальність різних алельних варіантів гена *eNOS* серед української молоді з різним рівнем ризику виникнення кардіоваскулярних захворювань. За її даними, статистично значущих відмінностей між частотою СС- і ТС-варіантів в українській популяції немає, але наявність цих генів асоціюється з більш маніфестованими порушеннями судинного тону в молодих осіб, хворих на артеріальну гіпертензію [157; 158].

Популяційне дослідження, проведене у 9 різних регіонах Великобританії, показало, що співвідношення нормальних гомозигот, гетерозигот і патологічних гомозигот при аналізі поліморфізму T786C промотора становило відповідно 37,7; 47,8 і 14,5 %. Спостереження протягом 8 років за 2965 досліджуваними не виявило впливу поліморфізму промотора гена *eNOS* на частоту розвитку ішемічної хвороби серця [159].

Частота варіантів TT-, ТС-, СС-промотора у положенні 786 в італійців приблизно відповідає такій у Великобританії [160]. При цьому ризик розвитку ішемічної хвороби серця був достовірно вище у гомозигот СС, ніж у гомозигот, причому генотип СС виявився незалежним фактором ризику розвитку коронарного атеросклерозу. Було показано, що сам факт наявності патологічного алеля С є фактором ризику ішемічної хвороби серця, а серед хворих носії патологічного алеля мали більш виражене атеросклеротичне ушкодження вінцевих артерій (за даними коронароангіографії) [161; 162]. У дослідженні G. Ghilardi і співавторів у хворих, прооперованих із приводу стенозу внутрішньої сонної артерії, генотип СС виявляли вдвічі частіше, ніж у групі контролю, а у хворих зі стенозом сонної артерії генотип СС був більш розповсюджений у групі з укритою виразками атеросклеротичною бляшкою (відповідно 44 і 17 %, $P=0,003$) [163].

Частота патологічних гомозигот СС в іспанців, яким менше 60 років, становить 14,3 %, а чоловіків до 50 років, що курять, хворих на ішемічну хворобу серця, цей генотип виявляли достовірно частіше — 21,8 % [164]. Це

послужило підставою припустити, що генотип СС промотора гена *eNOS* визначає підвищений ризик передчасного розвитку атеросклерозу в умовах впливу несприятливих факторів зовнішнього середовища (куріння).

У дослідження М. Е. Hyndman і співавторів [165], проведене в Канаді, було включено 705 чоловіків середнього віку без ішемічної хвороби серця в анамнезі. Співвідношення різних варіантів генотипів (ТТ, ТС і СС) промотора гена *eNOS* було близьким з таким у європейців і розподілялося відповідно як 38,9; 46,1 і 15,0 %. В осіб з генотипом СС відзначали достовірно більш високі рівні систолічного артеріального тиску, у них також частіше діагностували артеріальну гіпертензію. Це дозволило авторам зробити висновок, що генотип СС промотора гена *eNOS* є чинником розвитку артеріальної гіпертензії.

У японській популяції частота алеля С, за даними дослідження Suita, досить низька (20,2 % населення), а патологічних гомозигот (СС) — близько 1 % усього населення [166]. У хворих із гострим інфарктом міокарда поширеність різних варіантів промотора не відрізнялася від такої у загальній популяції, що дозволило зробити висновок про відсутність значення цього поліморфізму в патогенезі гострого інфаркту міокарда в японців [167; 168]. Проте у дослідженнях М. Nishijima et al. [166] мутація T786C асоціювалася з коронарним спазмом і частіше виявлялася в хворих із гострим інфарктом міокарда, особливо без органічного стенозу вінцевих артерій.

Таким чином, патологічний генотип СС промотора гена *eNOS* трапляється у 6,0 % здорових донорів в Україні, що достовірно більше, ніж у японській популяції, і менше, ніж у західних європейців (італійців, англійців, іспанців, французів), білих американців і австралійців [167].

Кількість уже відомих генів-тригерів мультифакторних захворювань швидко збільшується. Тільки в останні роки ідентифіковані мутантні алелі гена *CC16*, що призводять у гомозиготному стані до бронхіальної астми (10 % населення); мутації у гені фактора V згортання крові [169], що різко збільшують імовірність тромбозів;

нарешті, алельні поліморфізми генів *TGF2*, що корелюють з такими досить частими аномаліями внутрішньоутробного розвитку, як щілина верхньої губи (заяча губа) і незарощення твердого піднебіння (вовча паща) [170; 171].

Однак порівняно часті мутації структурних генів далеко не завжди шкідливі для організму. Іноді, досить рідко, вони можуть виявитися навіть корисними. Для ілюстрації даного положення традиційно часто використовують приклад серпоподібно-клітинної анемії у країнах Середземномор'я, де мутації в глобінових генах у гетерозиготному стані служать дієвим захистом від малярії, тимчасом як у гомозиготному — виявляються летальними [172]. Подібний збалансований поліморфізм нещодавно описаний і для гена муковісцидозу (*CFTR*) [173–175]. Експериментально доведено, що особи, гетерозиготні за мутаціями гена *CFTR*, мають підвищену стійкість до холерного токсину [176; 177]. Імовірно, саме цим можна пояснити настільки високу частоту мутацій гена *CFTR* у популяції, незважаючи на те, що в гомозиготному стані вони призводять до тяжкого спадкового захворювання.

Кілька років тому був описаний ще один незвичайний варіант генного поліморфізму, що має, як з'ясувалося, безпосереднє відношення до ВІЛ-інфікування [177]. Синдром набутого імунodefіциту, що викликає вірус імунodefіциту людини, — одна з грізних інфекцій сучасності. Стрімке зростання її епідемії стимулює напружений пошук захисту від цієї чуми XX і XXI ст. Відомо, однак, що в частини інфікованого населення хвороба розвивається дуже повільно, а окремі індивідууми виявляють до нього дивовижну стійкість. Установлено також, що ці розходження обумовлені мутацією (делецією 32-ї пари нуклеотидів) у гені *CCR-5*, мембранний білковий продукт якого служить корцептором макрофаготропних штамів вірусу HIV [177]. Відсутність цього білка істотно утруднює у гетерозигот або унеможливає у гомозигот проникнення патогенного вірусу в клітини-мішені.

Російські генетики [178] визначили частоту нульового алеля *CCR-5* в різних популяціях Росії і країн СНД: у росіян і татар — 25 %, в узбеків — до 15 %, у казахів, азербайджанців, уйгурців і тувинців — до 10 %. У грузинів цей алель трапляється вкрай рідко, тобто у разі масового поширення вірусу ВІЛ саме ця популяція постраждає сильніше за інших. Таким чином, тестування за «нульовим» алелем гена *CCR-5* має принципове значення для з'ясування міжпопуляційних розходжень чутливості до можливої пандемії СНІДу. Більш того, уже зараз такі тести необхідні для раціонального добору медичних кадрів й обслуговуючого персоналу в спеціалізованих клініках.

Французькі та південноафриканські медики знайшли дві генетичні варіації, що знижують ризик захворювання людини на туберкульоз [178]. На жаль, ген *CD209*, з яким пов'язані ці варіації, є багатofункціональним. Варіанти гена, що дають найкращий захист від туберкульозу, не оптимальні для захисту від ВІЛ і гарячки денге.

Кодований геном *CD209* білок DC-SIGN (dendritic cell-specific ICAM-3-grabbing non-integrin) є рецептором, що розпізнає специфічні вуглеводи, які присутні на поверхні клітин багатьох патогенних мікроорганізмів, у тому числі *M. tuberculosis*. Вчені змогли виявити дві варіації у промоторі даного гена, частота яких значно вища у здорових, ніж у хворих (гуанін у 871-й і аденозин у 336-й позиції). Білок DC-SIGN належить до найнижчого (уродженого, неспецифічного) рівня імунного захисту і бере участь у розпізнанні не тільки збудника туберкульозу, але і багатьох інших патогенів. У 2005 р. був показаний зв'язок алельних варіантів гена *CD209* з чутливістю до таких найнебезпечніших інфекцій, як ВІЛ і гарячка денге. В обох випадках виявилось, що ключову роль відіграє нуклеотид, який знаходиться у 336-й позиції промоторної ділянки. Проте якщо для захисту від туберкульозу вигідніше мати у цій позиції аденозин, то від ВІЛ-інфекції краще захистить цитозин, а від гарячки денге — гуанін [179]. У різних людських популя-

ціях, очевидно, добір сприяв різним алелям, залежно від переважаючих інфекцій. Усі ці дані, безумовно, можуть допомогти в розробці ефективних засобів профілактики та лікування небезпечних хвороб.

В останні роки різко зросла кількість публікацій, присвячених антифосфоліпідному синдрому (АФС) [180–186]. Термін антифосфоліпідний синдром (відомий також як синдром Hughes) був запропонований для симптомокомплексу, при якому виникає схильність до тромбоемболії, а відтак артеріального і венозного тромбозу, хронічного невиношування вагітності, гестозів, автоімунної тромбоцитопенії, обумовленої наявністю широкого спектра антитіл до клітинних фосфоліпідів. Антикардіоліпінові антитіла можуть реагувати з кардіоліпіном та іншими негативно зарядженими фосфоліпідами. Існує також термін «вовчаковий антикоагулянт», який стосується гетерогенної групи антитіл, найчастіше IgG типу, які визначаються їх інгібіторними ефектами на коагулоактивні фосфоліпідні компоненти у тестах на згортання крові *in vitro* [180]. Сімейні випадки виявлення вовчакового антикоагулянту були вперше описані Exner et al. (1980) і Mackie et al. (1987) [181; 182]. У їхніх повідомленнях наявність цього показника була пов'язана із системним червоним вовчаком (SLE; 152700) або подібними імунними порушеннями, тобто багато з членів сімей мали клінічні серологічні прояви, схожі на ті, що виникають при червоному вовчаку. Matthey et al. (1989) описали сім'ю, в якій кілька членів мали антикардіоліпінові антитіла, а двоє — вовчаковий антикоагулянт, але без будь-яких клінічних проявів. У цій сім'ї також простежувалися різні автоімунні порушення, включаючи автоімунну тромбоцитопенію [183].

Hellan et al. (1998) описали брата і сестру, що мали позитивні тести на вовчаковий антикоагулянт, підвищений рівень антикардіоліпінового імуноглобуліну G1 та системний червоний вовчак [184]. Обидва пацієнти страждали від ускладнень венозного тромбозу з раннього віку. У жінки симптоми спонтанного тромбозу глибоких

вен правої ноги виникли у віці 22 роки. Її брат був госпіталізований у віці 13 років із симптомами поліартриту та гепатоспленомегалією. У нього були виявлені серологічні та гістологічні маркери вовчака. У віці 17 років у хворого виник тромбоз глибоких вен ноги після незначної травми. Асоціацію між наявністю вовчакового антикоагулянту та розвитком вади клапанів серця виявили Hoshida et al. (1998), які описали типовий стеноз мітрального клапана у хворого з системним червоним вовчаком із підвищеним вмістом вовчакового антикоагулянту [185].

У нащадків двоюрідних брата і сестри, що побралися, Brenner et al. (1996) спостерігали рецидивну тромбоемболію [186]. Цей випадок сімейного антифосфоліпідного синдрому був пов'язаний із мутацією R506Q V фактора згортання крові. Наявність спадкового фактора та набутої АФС-резистентності обумовили тяжкий клінічний перебіг захворювання. У старшої сестри виник тромбоз стегнової вени та відбулася внутрішньоматочна загибель плода під час третьої вагітності. Під час четвертої вагітності жінка одержувала еноксапарин з 10-го тижня гестації, втім, цей запобіжний захід виявився неефективним і на 20-му тижні знову відбулася внутрішньоматочна загибель плода. Пізніше в неї знову виник тромбоз глибоких вен нижньої кінцівки. Її молодша сестра у перші три місяці вагітності була госпіталізована з інфарктом хребця L4, абортom та панцитопенією. Akiguchi et al. (1999) описав випадок АФС у сім'ї, в якій протягом трьох поколінь відбувалися близькородинні шлюби [186]. У хворих було діагностовано хворобу Binswanger'a і високі титри вовчакового антикоагулянту при негативному результаті тестів на кардіоліпін. Іншими проявами захворювання були системний червоний вовчак і венозний тромбоз. Gelfand et al. (1999) описав системні й офтальмічні прояви у 39 хворих з АФС. Подібні результати одержали Miserocchi et al. (2001) [187]. Hudson et al. (1997) знайшли зв'язок між поліморфізмом HLA-DRB1*14 алеля і сімейним АФС [188].

Втім, у роботі Goel et al. (1999) підтвердження зв'язку АФС з кількома генами-кандидатами виявлено не було [189]. На лабораторній моделі Girardi et al. (2003) показали можливу роль активації комплексу у виникненні АФС і, зокрема, взаємодії C5a та рецептора (C5R1) [190]. Вочевидь, подальші дослідження генетичної детермінації АФС можуть бути корисними для його ефективної профілактики та лікування.

За висловлюванням відомого епідеміолога М. L. Slaterry, «молекулярна епідеміологія — це ... мистецтво об'єднувати біологічну, клінічну і екологічну інформацію. Молекулярні епідеміологи повинні добре орієнтуватися не тільки в патології, але й у біологічній нормі. Для дослідження на популяційному рівні їм необхідні знання у різних галузях біології та медицини. Метою і наслідком мистецтва епідеміології має стати пояснення патогенезу складних багатфакторних захворювань» [191].

Основними завданнями молекулярної епідеміології були і залишаються визначення генетично обумовленої схильності до захворювання. При цьому приділяється велика увага і умовам проживання та праці індивідуума, який є носієм патологічно обтяжених генетичних варіацій. Це пояснюється тим, що більша частина захворювань виникає, насамперед, завдяки несприятливим впливам зовнішнього середовища, обумовленого нездоровим способом життя або незадовільною еколого-гігієнічною ситуацією.

Сьогодні генетичні технології дозволяють з високою точністю визначати поліморфізм одиничних нуклеотидів, мікросателітів, проводити повногеномні дослідження. Однак для успішного розв'язання завдань молекулярної епідеміології необхідно не лише оволодіти сучасними методами молекулярно-біологічних досліджень, але й правильно організувати збирання, аналіз та інтерпретацію даних. Велике значення для розвитку молекулярної епідеміології має створення інтердисциплінарних зв'язків, у тому числі з медичною екологією та токсикологією. У зв'язку з цим набув значної актуальності пошук біо-

маркерів впливу й ефекту (див. розд. 11), які дозволяють визначити прогноз захворювання, а також впровадження ефективних схем моніторингу стану здоров'я цільових груп [192]. Як маркери пропонується використовувати аддукти ДНК, специфічних білків, у тому числі гемоглобіну [193]. Зростання інтересу до нових напрямків наукового пошуку, зокрема протеоміки та метаболоміки, дозволило значно розширити спектр профілактичних заходів щодо соціально значущої патології [194].

Внаслідок застосування методів молекулярної епідеміології стає можливим розробити ефективні лікувально-профілактичні заходи для більшості соціально-значущих захворювань. В основі індивідуалізованих програм профілактики лежить ідентифікація осіб групи ризику, які в подальшому підлягають більш інтенсивному медичному спостереженню із застосуванням інших інструментів скринінгу, в деяких випадках — превентивному лікуванню. При обмеженості ресурсів системи охорони здоров'я така індивідуалізація дозволяє більш ефективно запобігати виникненню захворювань та їх ускладнень [195].

Найбільший інтерес у фахівців викликає проблема ефективного генетичного скринінгу при злоякісних новоутвореннях [196]. Вважається, що за умов впливу несприятливого середовища за наявності патологічно обтяженого генотипу розвиток пухлини є найбільш імовірним, а перебіг онкологічного захворювання більш агресивним і більш резистентним до лікування. Принципи молекулярної епідеміології можуть бути з успіхом використані при дослідженні віддалених наслідків захворювання, у тому числі при застосуванні різних медикаментозних засобів лікування. Врахування фармакогенетичних особливостей дозволяє значно підвищити ефективність лікування, уникнути небезпечних ускладнень і зменшити ризик побічних ефектів лікування.

У зв'язку з цим виникає нагальна проблема розробки нових підходів до організації диспансерного спостереження, збору й аналізу даних у практиці клініко-епідеміологічного моніторингу соціально значу-

щикх хвороб мультифакторної природи [197–199]. Розуміння складної їх гетерогенної етіології, настороженість щодо найбільш важливих в епідеміологічному сенсі генетичних комбінацій дозволяє перетворити молекулярну епідеміологію з суто теоретичної дисципліни на важливий інструмент клінічної медицини. У зв'язку з тим, що використання молекулярно-генетичного скринінгу потребує глибоких знань спеціальних розділів молекулярної біології, геноміки, біоінформатики, епідеміології та клінічних дисциплін, а також із тим, що одна особа не може бути експертом в усіх вищеназаних галузях, надзвичайно великого значення набуває співробітництво різних фахівців і так званий мультидисциплінарний підхід. Водночас при адекватному використанні генетичних технологій у сучасній медицині стане можливим розробити ефективні алгоритми профілактики для виникнення та розвитку злоякісних пухлин і захворювань серцево-судинної системи, гормональних порушень, уронефрологічної патології, захворювань шлунково-кишкового тракту, органів дихання, інших органів і систем, профілактики перинатальної патології, неплідності та гінекологічної патології, забезпечити подальший розвиток передімплантаційної діагностики.

Цей підхід дозволить оптимізувати існуючі алгоритми медикаментозної та метаболічної терапії для індивідуального використання відповідно до наявних факторів генетичного ризику, провести оптимальну корекцію якісного та кількісного складу раціонів харчування з урахуванням генетичних особливостей. Стане можливим розробити ефективні алгоритми профілактики виникнення та розвитку психічних захворювань, підібрати ефективні методи управління стресом відповідно до генотипу. Нарешті, використання підходів молекулярної епідеміології дозволить розробити вакцини та інші імунобіологічні препарати індивідуального використання, а також скласти рекомендації щодо оптимального застосування косметичних препаратів і процедур. Перспективним напрямком є створення індивідуалізованих

програм подовження життя та його якості у осіб групи генетичного ризику, а також розробка ефективних програм управління ресурсами системи охорони здоров'я для концентрації їх у регіонах, де популяційні ризики генетично детермінованої патології є найбільш високими.

Список літератури

1. *Khoury M. J.* Fundamentals of genetic epidemiology / M. J. Khoury, T. H. Beaty, B. H. Cohen. — Oxford University Press, 1993. — 150 p.
2. *Molecular epidemiology* [Електронний ресурс]. — Режим доступу : http://www.nlm.nih.gov/cgi/mesh/2010/MB_cgi?term=Molecular%20Epidemiology&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Mesh.Mesh_ResultsPanel.Mesh_RVFull&ordinalpos=1
3. *Slatter M.* Dictionary of Epidemiology / M. Slatter. — 5 ed. — Oxford University Press (USA), 2008. — 320 p.
4. *Gorodezky C.* Desarrollo global e historico del IMETAf en Mexico / C. Gorodezky // Gac. Med. Mex. — 1997. — Vol. 133, Suppl 1. — P. 5-12.
5. *Day I.* Molecular Genetic Epidemiology — A Laboratory Perspective (Principles and Practice) / I. Day. — Springer, 2001. — 214 p.
6. *Morton N. E.* Genetic epidemiology / N. E. Norton // Ann. Hum. Genet. — 1997, Jan. — Vol. 61, Pt. 1. — P. 1-13.
7. *Dekker M. C.* Prospects of genetic epidemiology in the 21st century / M. C. Dekker, C. M. van Duijn // Eur. J. Epidemiol. — 2003. — Vol. 18, N 7. — P. 607-616.
8. *Мирошніченко И. И.* Биомаркеры в современной медицинской и биологической практике / И. И. Мирошніченко, С. Н. Птицына // Биомедицинская химия. — 2009. — Т. 55, № 4. — С. 425-440.
9. *Strachan T.* Human Molecular Genetics, / T. Strachan, T. Read. — 3 ed. — Garland Science : Taylor & Francis Group, 2003. — 689 p.
10. *Siegmund D.* The Statistics of Gene Mapping (Statistics for Biology and Health)

/ D. Siegmund, B. Yakir. — Springer, 2007. — 340 p.

11. *Biomarkers of Disease: An Evidence-Based Approach* / A. K. Trull, L. M. Demers, D. W. Holt [et al.]. — 1 Reprint. — Price Cambridge University Press, 2008. — 520 p.

12. *Biomarkers in toxicology and risk assessment: informing critical dose-response relationships* / J. A. Swenberg, E. Fryar-Tita, Y. C. Jeong [et al.] // *Chem. Res. Toxicol.* — 2008. — Vol. 21, N 1. — P. 253-265.

13. *Biologische Marker in der Epidemiologie: Begriffe, Anwendungen, Perspektiven (Teil II)* / W. Hoffmann, U. Latza, W. Ahrens [et al.] // *Gesundheitswesen.* — 2002. — Vol. 64, N 3. — P. 145-152.

14. *Walczak A. Problemy higieny i epidemiologii, takze molekularnej* / A. Walczak // *Ann. Acad. Med. Stetin.* — 2005. — Vol. 51, Suppl. 1. — P. 9-14.

15. *Galan A. The project on Environmental Health indicators of European Centre for Environment and Health* / A. Galan // *Гігієнічні проблеми Півдня України : матеріали наук.-практ. конф., присв. 100-річному ювілею кафедри загальної гігієни Одеського державного медичного університету (1993–2003 рр.).* — Одеса, 2003. — С. 116-123.

16. *Schatzkin A. Problems with using biomarkers as surrogate end points for cancer: a cautionary tale* / A. Schatzkin // *Recent Results Cancer Res.* — 2005. — Vol. 166. — P. 89-98.

17. *Savas S. Genetic variations as cancer prognostic markers: review and update* / S. Savas, G. Liu // *Hum. Mutat.* — 2009. — Vol. 30, N 10. — P. 1369-1377.

18. *Пентюк О. О. Цитохром P4502E1. Поліморфізм, фізіологічна функція, регуляція та роль в патології* / О. О. Пентюк, С. О. Качула, О. Х. Герич // *Український біохімічний журнал.* — 2004. — Т. 76, № 5. — С. 16-28.

19. *Conneally P. M. The complexity of complex diseases* / P. M. Conneally // *Am. J. Hum. Genet.* — 2003. — Vol. 72, N 2. — P. 229-232.

20. *Запорожан В. М. Молекулярно-генетичні детермінанти виникнення мультифакторіальних захворювань: сучасний стан*

проблеми і перспективи дослідження / В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, Ю. М. Ворохта // *Інтегративна антропологія.* — 2008. — Т. 12, № 2. — С. 4-7.

21. *Запорожан В. Н. От геномики — к генетической медицине* / В. Н. Запорожан, Ю. И. Бажора // *Інтегративна антропологія.* — 2007. — Т. 10, № 2. — С. 4-11.

22. *Mackey D. A. The 'I' in personalized genetics: 2008 Ian Constable lecture* / D. A. Mackey // *Clin. Experiment. Ophthalmol.* — 2009. — Vol. 37, N 5. — P. 434-443.

23. *Rothstein M. A. Keeping your genes private* / M. A. Rothstein // *Sci. Am.* — 2008. — Vol. 299, N 3. — P. 64-69.

24. *Merrill R. M. Environmental Epidemiology: Principles and Methods* / R. M. Merrill. — 1 ed. — Jones & Bartlett Pub, 2007. — 483 p.

25. *Коробчанський В. О. Діагностика донозологічних станів серед дітей і підлітків (Аналітичний огляд)* / В. О. Коробчанський, А. Ю. Мартянова // *Експериментальна і клінічна медицина.* — 2002. — № 2. — С. 135-140.

26. *Коробчанский В. А. Явление адаптационного перехода и гигиеническая коррекция саногенеза* / В. А. Коробчанский // *Медицина сегодня и завтра.* — 2002. — № 4. — С. 139-144.

27. *Ginsburg G. Genomic and personalized medicine: foundations and applications* / G. Ginsburg, H. Willard // *Transl. Res.* — 2009. — Vol. 154, N 6. — P. 277-287.

28. *Геном человека и гены «предрасположенности». Введение в предиктивную медицину* / В. С. Баранов, Е. В. Баранова, Т. Э. Иващенко, М. В. Асеев. — М.: Академия, 2000. — 361 с.

29. *Журахівська Н. В. Генетичні маркери схильності до розвитку пневмокніозу у шахтарів вугільних шахт : автореф. дис. ... канд. біол. наук : спец. 03.00.15* / Н. В. Журахівська ; Державна установа «Науковий центр радіаційної медицини АМН України». — К., 2009. — 20 с.

30. *Genetic epidemiology and public health: hope, hype and future prospects* / G. Davey Smith, S. Ebrahim, S. Lewis [et al.] // *Lancet.* — 2005. — Vol. 366, N 9495. — P. 1484-1498.

31. *Claus E. B.* Risk models in genetic epidemiology / E. B. Claus // *Stat. Methods. Med. Res.* — 2000. — Vol. 9, N 6. — P. 589-601.
32. *Prospects for epigenetic epidemiology* / D. L. Foley, J. M. Craig, R. Morley [et al.] // *Am. J. Epidemiol.* — 2009. — Vol. 169, N 4. — P. 389-400.
33. *Kim K. C.* DNA methylation, an epigenetic mechanism connecting folate to healthy embryonic development and aging / K. C. Kim, S. Friso, S. W. Choi // *J. Nutr. Biochem.* — 2009. — Vol. 20, N 12. — P. 917-926.
34. *Molecular nosocomial epidemiology: high speed typing of microbial pathogens by arbitrary primed polymerase chain reaction assays* / A. van Belkum, W. van Leeuwen, J. Kluytmans [et al.] // *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* — 1995. — Vol. 16, N 11. — P. 658-666.
35. *Molecular epidemiology: HIV-1 and HCV sequences from Libyan outbreak* / T. de Oliveira, O. G. Pybus, A. Rambaut [et al.] // *Nature.* — 2006. — Vol. 444, N 7121. — P. 836-837.
36. *Yamamoto-Furusho J. K.* Clinical epidemiology of ulcerative colitis in Mexico: a single hospital-based study in a 20-year period (1987–2006) / J. K. Yamamoto-Furusho // *J. Clin. Gastroenterol.* — 2009. — Vol. 43, N 3. — P. 221-224.
37. *Multiple serological biomarkers for colorectal cancer detection* / C. C. Chan, C. W. Fan, Y. B. Kuo [et al.] // *Int. J. Cancer.* — 2010. — Vol. 126, N 7. — P. 1683-1690.
38. *Scheepers P. T.* The use of biomarkers for improved retrospective exposure assessment in epidemiological studies: summary of an ECETOC workshop / P. T. Scheepers // *Biomarkers.* — 2008. — Vol. 13, N 7. — P. 734-748.
39. *DNA repair polymorphisms and the risk of stomach adenocarcinoma and severe chronic gastritis in the EPIC-EURGAST study* / G. Capella, G. Pera, N. Sala [et al.] // *Int. J. Epidemiol.* — 2008. — Vol. 37, N 6. — P. 1316-1325.
40. *Genetic variants in association studies—review of strengths and weaknesses in study design and current knowledge of impact on cancer risk* / U. Andersson, R. McKean-Cowdin, U. Hjalmar, B. Malmer // *Acta Oncol.* — 2009. — Vol. 48, N 7. — P. 948-954.
41. *Peddle L.* Genetic epidemiology of complex phenotypes / L. Peddle, P. Rahman // *Methods. Mol. Biol.* — 2009. — Vol. 473. — P. 187-201.
42. *Hagymási K.* Az elsodleges majrak epidemiologiaja, koroka es kialakulasanak molekularis hattere / K. Hagymási, Z. Tullassay // *Orv. Hetil.* — 2008. — Vol. 149, N 12. — P. 541-548.
43. *Patterns and changes in gene expression following neo-adjuvant anti-estrogen treatment in estrogen receptor-positive breast cancer* / V. Cappelletti, M. Gariboldi, L. De Cecco [et al.] // *Endocr. Relat. Cancer.* — 2008. — Vol. 15, N 2. — P. 439-449.
44. *Saji S.* Application of selective estrogen receptor modulators for breast cancer treatment according to their intrinsic nature / S. Saji, K. Kuroi // *Breast Cancer.* — 2008. — Vol. 15, N 4. — P. 262-269.
45. *Германов В. Т.* Генетический мониторинг врожденной и наследственной патологии / В. Т. Германов, О. Н. Андрущенко, В. В. Анцупова. — Луганск : НФВ «СТЕК», 2004. — 312 с.
46. *Forekomsten af utilsigtede haendelser pa sygehuse. En retrospektiv gennemgang af journaler* / T. Schiøtler, H. Lipczak, B. L. Pedersen [et al.] // *Ugeskr. Laeger.* — 2001. — Vol. 163, N 39. — P. 5370-5378.
47. *Single nucleotide polymorphisms in obesity-related genes and all-cause and cause-specific mortality: a prospective cohort study* / L. Gallicchio, H. H. Chang, D. K. Christo [et al.] // *BMC Med. Genet.* — 2009. — Vol. 10. — P. 103.
48. *Ethical and policy issues in cluster randomized trials: rationale and design of a mixed methods research study* / M. Taljaard, C. Weijer, M. Grimshaw [et al.] // *Trials.* — 2009. — Vol. 28, N 10. — P. 61.
49. *Koretz R. L.* Considerations of study design / R. L. Koretz // *Nutr. Clin. Pract.* — 2007. — Vol. 22, N 6. — P. 593-598.
50. *Imyanitov E. N.* Searching for cancer-associated gene polymorphisms: promises and obstacles / E. N. Imyanitov, A. V. Togo, K. P. Hanson // *Cancer Lett.* — 2004. — Vol. 204, N 1. — P. 3-14.

51. Власов В. В. Введение в доказательную медицину / В. В. Власов. — М. : МедиаСфера, 2001. — 392 с.
52. *The cost effectiveness of duplicate genotyping for testing genetic association* / N. Tintle, D. Gordon, D. Van Bruggen, S. Finch // *Ann. Hum. Genet.* — 2009. — Vol. 73, Pt. 3. — P. 370-378.
53. *Roses A. D. The medical and economic roles of pipeline pharmacogenetics: Alzheimer's disease as a model of efficacy and HLA-B (*)5701 as a model of safety* / A. D. Roses // *Neuropsychopharmacology.* — 2009. — Vol. 34, N 1. — P. 6-17.
54. *Chen Y. H. Two-stage analysis for gene-environment interaction utilizing both case-only and family-based analysis* / Y. H. Chen, H. W. Lin, H. Liu // *Genet. Epidemiol.* — 2009. — Vol. 33, N 2. — P. 95-104.
55. *Trenti T. Clinical Governance and evidence-based laboratory medicine* / T. Trenti, C. Canali, A. Scognamiglio // *Clin. Chem. Lab. Med.* — 2006. — Vol. 44, N 6. — P. 724-732.
56. *Meurin P. Savez-vous qu'il est possible de mesurer l'INR au doigt?* / P. Meurin, J. Y. Tabet, A. Ben Driss [et al.] // *Presse Med.* — 2006. — Vol. 35, N 12. — Pt. 1. — P. 1785-1786.
57. *Cytologic analysis of the urinary sediment* / M. J. Fernández-Aceñero, D. Lorence, L. Criado, E. Aguirregoicoa // *Acta Cytol.* — 2009. — Vol. 53, N 6. — P. 720-721.
58. *Biomarkers obtained by non-invasive methods in patients with COPD: where do we stand, what do we expect?* / G. Hillas, S. Loukides, K. Kostikas [et al.] // *Curr. Med. Chem.* — 2009. — Vol. 16, N 22. — P. 2824-2838.
59. *Pai S. I. Molecular pathology of head and neck cancer: implications for diagnosis, prognosis, and treatment* / S. I. Pai, W. H. Westra // *Annu. Rev. Pathol.* — 2009. — Vol. 4. — P. 49-70.
60. *Бондарець І. А. Генетико-демографічні процеси як основа відтворення населення* : автореф. дис. ... канд. мед. наук : спец. 03.00.15 / І. А. Бондарець ; Ін-т гігієни та мед. екології ім. О. М. Марзєєва АМН України. — К., 2007. — 21 с.
61. *Демографічні процеси в сучасній Україні* / Л. Ю. Беренштейн, П. П. Панченко, А. І. Стахневич, С. М. Живора ; НАН України ; Ін-т історії України. — К., 1998. — 95 с.
62. *Організація генетичного моніторингу : метод. рекомендації* / Уклад. О. І. Тимченко ; АМН України ; Укр. центр наук. мед. інформації та патентно-ліценз. роботи. — К., 2001. — 35 с.
63. *Генофонд і здоров'я населення: методологія оцінки ризику від мутагенів довкілля, напрямки профілактики генетично обумовленої патології* / А. М. Сердюк, О. І. Тимченко, Н. Г. Гойда [та ін.]. — К. : ІГМЕ АМН України, 2003. — 190 с.
64. *Тимченко О. І. Законодавче і методологічне забезпечення генетичного моніторингу населення України* / О. Тимченко, О. Турос // ПАГ. — 1999. — № 4. — С. 147.
65. *Сучасна демографічна ситуація в Україні: проблеми, перспективи, шляхи вирішення* : наук.-аналіт. доповідь / за ред. акад. С. І. Пирожкова. — К., 2007. — 72 с.
66. *Шамрай В. А. Гігієнічна оцінка впливу довкілля на формування онкогінекологічної патології та обґрунтування заходів щодо її профілактики* : дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.02.01 / В. А. Шамрай ; Донецьк. держ. мед. ун-т ім. М. Горького. — Донецьк, 2006. — 261 с.
67. *Національна програма «Онкологія»* [Електронний ресурс]. — К., 2001. — 22 с. — Режим доступу : <http://www.nau.kiev.ua>
68. *Ендокринологія : підручник* / за ред. П. М. Боднара. — 2-ге вид. — Вінниця : Нова Книга, 2009. — 582 с.
69. *Dorman J. S. Molecular epidemiology of insulin-dependent diabetes mellitus* / J. S. Dorman // *Epidemiol. Rev.* — 1997. — Vol. 19, N 1. — P. 91-98.
70. *Manolio T. A. The HapMap and genome-wide association studies in diagnosis and therapy* / T. A. Manolio, F. S. Collins // *Annu. Rev. Med.* — 2009. — Vol. 60. — P. 443-456.
71. *Les projets genome de genomique et de genetique* // *Med. Sci. (Paris).* — 2009. — Spec. N 1. — P. 33-37.
72. *Genetics of complex human diseases: genome screening, association studies and fine*

- mapping / J. Xu, D. G. Wiesch, D. A. Meyers [et al.] // Clin. Exp. Allergy. — 1998. — Vol. 28, Suppl. 5. — P. 1-5.
73. Rich S. S. Positional cloning works! Identification of genes that cause IDDM / S. S. Rich // Diabetes. — 1995. — Vol. 44, N 2. — P. 139-140.
74. De Grouchy J. Autosomal mendelian disorders and microcytogenetics / J. de Grouchy, C. Turleau // Recent. Prog. Med. — 1990. — Vol. 81, N 5. — P. 337-343.
75. Gubitz A. K. Mining the genome for susceptibility to complex neurological disorders / A. K. Gubitz, K. Gwinn // Curr. Mol. Med. — 2009. — Vol. 9, N 7. — P. 801-813.
76. Altshuler D. Genetic mapping in human disease / D. Altshuler, M. J. Daly, E. S. Lander // Science. — 2008. — Vol. 322, N 5903. — P. 881-888.
77. Baxeavanis A. D. Searching Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) for information for genetic loci involved in human disease / A. D. Baxeavanis // Curr. Protoc. Hum. Genet. — 2003, Feb. — Chapter 9, Unit 9. — P. 13.
78. Pace N. R. Mapping the tree of life: progress and prospects / N. R. Pace // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2009. — Vol. 73, N 4. — P. 565-576.
79. Запорожан В. Н. Молекулярная эпидемиология — связующее звено между фундаментальными исследованиями и практическим здравоохранением (обзор литературы и собственных исследований) / В. Н. Запорожан, Ю. И. Бажора // Журн. Акад. мед. наук України. — 2008. — Т. 14, № 2. — С. 344-352.
80. Mir K. U. Sequencing genomes: from individuals to populations / K. U. Mir // Brief. Funct. Genomic. Proteomic. — 2009, Sep. — Vol. 8, N 5. — P. 367-378.
81. Запорожан В. Н. От геномики — к генетической медицине / В. Н. Запорожан, Ю. И. Бажора // Журнал Акад. мед. наук України. — 2007. — № 2. — С. 4-11.
82. Баранов В. С. Генетический паспорт — основа активного долголетия и максимальной продолжительности жизни / В. С. Баранов, Е. В. Баранова // Успехи геронтологии. — 2009. — Т. 22, № 1. — С. 84-91.
83. Иванов В. И. Геномика — медицине / В. И. Иванов. — М. : Академкнига, 2005. — 392 с.
84. Генетична медицина / В. М. Запорожан, В. А. Кордюм, Ю. І. Бажора [та ін.] ; за ред. В. М. Запорожана. — Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2008. — 432 с.
85. Wang L. Expanding the genetic code / L. Wang, J. Xie, P. G. Schultz // Annu Rev Biophys Biomol Struct. — 2006. — Vol. 35. — P. 225-249.
86. Golubnitschaja O. Predictive Diagnostics and Personalized Treatment: Dream or Reality (Hardcover) / O. Golubnitschaja // Nova Science Publishers. — 2009, May. — 621 p.
87. Патолофізіологічні аспекти генетичного поліморфізму ендотеліальної NO-синтази / В. Є. Досенко, В. Ю. Загорій, О. О. Мойбенко, О. М. Пархоменко // Фізіол. журнал. — 2002. — Т. 48, № 6. — С. 86-102.
88. Genomics and the prospects of existing and emerging therapeutics for cardiovascular diseases / M. Zaiou, H. Benachour, J. B. Marteau [et al.] // Curr. Pharm. Des. — 2009. — Vol. 15, N 27. — P. 3193-3206.
89. Dawood S. Pharmacology, pharmacogenetics, and pharmacoepidemiology: three p^s of individualized therapy / S. Dawood // Cancer Invest. — 2009. — Vol. 27, N 8. — P. 809-815.
90. Perls T. The genetics of aging — implications for pharmacogenomics / T. Perls, A. Puca // Pharmacogenomics. — 2002. — Vol. 3, N 4. — P. 469-484.
91. Genomanalyse und Genterapie: Ethische Herausforderungen in der Humanmedizin / H.-M. Sass, W. F. Anderson, K. Bayertz [et al.]. — 1 edition. — Springer, 1991. — 347 s.
92. Pathogenesis of intraabdominal and pelvic adhesion development / A. N. Imudia, S. Kumar, G. M. Saed, M. P. Diamond // Semin. Reprod. Med. — 2008. — Vol. 26, N 4. — P. 289-297.
93. Muehlschlegel J. D. Impact of genetic variation on perioperative bleeding / J. D. Muehlschlegel, S. C. Body // Am. J. Hematol. — 2008. — Vol. 83, N 9. — P. 732-737.
94. Eaton D. L. Biotransformation enzyme polymorphism and pesticide susceptibility

- / D. L. Eaton // Neurotoxicology. — 2000, Feb-Apr. — Vol. 21, N 1-2. — P. 101-111.
95. *Ozawa S.* Genetic polymorphisms in xenobiotic metabolizing enzymes as a determinant of susceptibility to environmental mutagens and carcinogens in humans / S. Ozawa // Yakugaku Zasshi. — 1997. — Vol. 117, N 10/11. — P. 895-909.
96. *Romkes M.* Genotyping technologies: application to biotransformation enzyme genetic polymorphism screening / M. Romkes, S. C. Buch // Methods. Mol. Biol. — 2005. — Vol. 291. — P. 399-414.
97. *Voisey J.* SNP technologies for drug discovery: a current review / J. Voisey, C. P. Morris // Curr. Drug. Discov. Technol. — 2008. — Vol. 5, N 3. — P. 230-235.
98. *Twyman R. M.* SNP discovery and typing technologies for pharmacogenomics / R. M. Twyman // Curr. Top. Med. Chem. — 2004. — Vol. 4, N 13. — P. 1423-1431.
99. *Алтухов Ю. П.* Полиморфизм ДНК в популяционной генетике / Ю. П. Алтухов, Е. А. Салменкова // Генетика. — 2002. — Т. 38, № 9. — С. 222-227.
100. *Анализ полиморфных аллелей генов, кодирующих ферменты 1-й и 2-й фазы детоксикации у больных эндометриозом* / Т. Э. Иващенко, Н. Ю. Швед, Н. А. Крамарева [и др.] // Генетика. — 2003. — Т. 39, № 4. — С. 525-529.
101. *Петровська Г. П.* Окиснювальні та кон'югаційні реакції біотрансформації ксенобіотиків за умов гострого та хронічного запального процесу : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.32 / Г. П. Петровська ; Нац. мед. ун-т ім. О. О. Богомольця. — К., 2007. — 20 с.
102. *Сравнительный анализ результатов фенотипирования и генотипирования по полиморфизму N-ацетилирования у человека* / И. В. Голденкова-Павлова, С. А. Брускин, Р. М. Абдеев [и др.] // Генетика. — 2006. — № 42. — С. 1-8.
103. *Chen C. H.* Ethnopsychopharmacology / C. H. Chen, C. Y. Chen, K. M. Lin // Int. Rev. Psychiatry. — 2008. — Vol. 20, N 5. — P. 452-459.
104. *Glutathione S-transferase M1, T1 and P1 polymorphisms and bladder cancer risk in Egyptians* / A. A. Saad, P. J. O'Connor, M. H. Mostafa [et al.] // Int. J. Biol. Markers. — 2005. — Vol. 20, N 1. — P. 69-72.
105. *Glutathione transferase pi plays a critical role in the development of lung carcinogenesis following exposure to tobacco-related carcinogens and urethane* / K. J. Ritchie, C. J. Henderson, X. J. Wang [et al.] // Cancer Res. — 2007. — Vol. 67, N 19. — P. 9248-9257.
106. *Polymorphisms in glutathione S-transferases GSTM1, GSTT1 and GSTP1 and cytochromes P450 CYP2E1 and CYP1A1 and susceptibility to cirrhosis or pancreatitis in alcoholics* / R. V. Burim, R. Canalle, L. Martinelli Ade, C. S. Takahashi // Mutagenesis. — 2004. — Vol. 19, N 4. — P. 291-298.
107. *Variations of the melanocortin-1 receptor and the glutathione-S transferase T1 and M1 genes in cutaneous malignant melanoma* / R. Mössner, N. Anders, I. R. König [et al.] // Arch. Dermatol. Res. — 2007. — Vol. 298, N 8. — P. 371-379.
108. *Polymorphism in environment responsive genes and association with Parkinson disease* / M. Singh, A. J. Khan, P. P. Shah [et al.] // Mol. Cell Biochem. — 2008. — Vol. 312, N 1/2. — P. 131-138.
109. *Professional exposure to pesticides and Parkinson disease* / A. Albaz, J. Clavel, P. Rathouz [et al.] // Ann. Neurol. — 2009. — Vol. 66, N 4. — P. 494-504.
110. *Washam C.* Pesticides: double exposure heightens Parkinson disease risk / C. Washam // Environ. Health Perspect. — 2009. — Vol. 117, N 7. — A295.
111. *Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: part II — endometriosis* / C. B. Tempfer, M. Simoni, B. Destenaves, B. C. Fauser // Hum. Reprod. Update. — 2009. — Vol. 15, N 1. — P. 97-118.
112. *Guo S. W.* Glutathione S-transferases M1/T1 gene polymorphisms and endometriosis: a meta-analysis of genetic association studies / S. W. Guo // Mol. Hum. Reprod. — 2005. — Vol. 11, N 10. — P. 729-743.
113. *Glutathione S-transferase M1*null genotype but not myeloperoxidase promoter G-463A polymorphism is associated with higher susceptibility to endometriosis* / Y. Hsieh, C. Chang, F. Tsai [et al.] // Mol.

Hum. Reprod. — 2004. — Vol. 10, N 10. — P. 713-717.

114. Швед Н. Ю. Роль генов «внешней среды» в патогенезе и лечении эндометриоза : дис. ... канд. биол. наук : спец. 03.00.15 / Н. Ю. Швед. — СПб., 2006. — 151 с.

115. *Reassessing the evidence for the link between dioxin and endometriosis: from molecular biology to clinical epidemiology* / S. W. Guo, P. Simsa, C. M. Kyama [et al.] // Mol. Hum. Reprod. — 2009. — Vol. 15, N 10. — P. 609-624.

116. Голубева О. В. Клинический и молекулярно-генетический анализ генитального эндометриоза: эндометриом яичников и аденомиоза : дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.00.01 / О. В. Голубева. — М., 2007. — 148 с.

117. Agúndez J. A. Polymorphisms of human N-acetyltransferases and cancer risk / J. A. Agúndez // Curr. Drug. Metab. — 2008. — Vol. 9, N 6. — P. 520-531.

118. NAT2 slow acetylation and GSTM1 null genotypes may increase postmenopausal breast cancer risk in long-term smoking women / O. L. van der Hel, P. H. Peeters, D. W. Hein [et al.] // Pharmacogenetics. — 2003. — Vol. 13, N 7. — P. 399-407.

119. *A systematic approach to analysing gene-gene interactions: polymorphisms at the microsomal epoxide hydrolase EPHX and glutathione S-transferase GSTM1, GSTT1, and GSTP1 loci and breast cancer risk* / A. B. Spurdle, J. H. Chang, G. B. Byrnes [et al.] // Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev. — 2007. — Vol. 16, N 4. — P. 769-774.

120. *Снектр* мутации гена CFTR у больных муковисцидозом из Башкортостана / Г. Ф. Корытина, Т. В. Викторова, Т. Е. Ивашенко [и др.] // Молекулярная биология. — 2003. — Вып. 37, № 1. — С. 61-67.

121. Корытина Г. Ф. Роль полиморфных вариантов генов цитохромов P450 (CYP1A1, CYP2E1) и микросомальной эпоксидагидролазы (mEPHX) в патогенезе муковисцидоза и хронических заболеваний дыхательной системы / Г. Ф. Корытина, Д. Г. Янбаева, Т. В. Викторова // Молекулярная биология. — 2003. — Вып. 37, № 5. — С. 784-792.

122. *La mucoviscidose: transition de l'enfant a l'adulte* / F. Brémont, M. Mittaine,

A. Martin-Blondel [et al.] // Arch. Pediatr. — 2009. — Vol. 16, N 6. — P. 581-582.

123. Barreiro L. B. From evolutionary genetics to human immunology: how selection shapes host defence genes / L. B. Barreiro, L. Quintana-Murci // Nat. Rev. Genet. — 2010. — Vol. 11, N 1. — P. 17-30.

124. *Genetic polymorphisms in cell cycle regulatory genes MDM2 and TP53 are associated with susceptibility to lung cancer* / X. Zhang, X. Miao, Y. Guo [et al.] // Hum. Mutat. — 2006. — Vol. 27, N 1. — P. 110-117.

125. *An introduction to genes, genomes and disease* / P. A. Hall, Y. Reis-Filho, I. P. Tomlinson, R. Poulson // J. Pathol. — 2010. — Vol. 220, N 2. — P. 109-113.

126. Auffray C. Systems medicine: the future of medical genomics and healthcare / C. Auffray, Z. Chen, L. Hood // Genome Med. — 2009. — Vol. 1, N 1. — P. 2.

127. Баранов В. С. Программа «Геном человека» и научная основа профилактической медицины / В. С. Баранов // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2000. — № 10. — С. 27-37.

128. *Канцерогенез* / под ред. Д. Г. Заридзе. — М. : Медицина, 2004. — 576 с.

129. Scoumanne A. Protein methylation: a new mechanism of p53 tumor suppressor regulation / A. Scoumanne, X. Chen // Histol. Histopathol. — 2008. — Vol. 23, N 9. — P. 1143-1149.

130. *Онкологія* / за ред. Б. Т. Білінського. — К. : Здоров'я, 2004. — 528 с.

131. *Association of the VDR translation start site polymorphism and fracture risk in older women* / S. P. Moffett, J. M. Zmuda, J. A. Cauley [et al.] // J. Bone. Miner. Res. — 2007. — Vol. 22, N 5. — P. 730-736.

132. *Changes in hip fracture epidemiology: redistribution between ages, genders and fracture types* / O. Löfman, K. Berglund, L. Larsson, G. Toss // Osteoporos Int. — 2002, Jan. — Vol. 13, N 1. — P. 18-25.

133. Ніканоров О. К. Застосування традиційних і нетрадиційних методів фізичної реабілітації у хворих з діафізарними переломами стегнової кістки та кісток гомілки : автореф. дис. ... канд. наук з фіз. виховання та спорту : спец. 24.00.03 / О. К. Ніканоров.

норов; Національний ун-т фізичного виховання і спорту України. — К., 2006. — 18 с.

134. *Risk factors for fracture in a UK population: a prospective cohort study* / J. Porthouse, Y. F. Birks, D. J. Torgenson [et al.] // *QJM*. — 2004. — Vol. 97, N 9. — P. 569-574.

135. *Balk S. P.* AR, the cell cycle, and prostate cancer / S. P. Balk, K. E. Knudsen // *Nucl. Recept. Signal.* — 2008. — Vol. 6. — P. e001.

136. *Genomic biomarkers, androgen pathway and prostate cancer* / F. Amico, M. Biancolella, K. Margiotti [et al.] // *Pharmacogenomics*. — 2007. — Vol. 8, N 6. — P. 645-661.

137. *Allen R. A.* A Common 1317TC Polymorphism in MTHFR Can Lead to Erroneous 1298AC Genotyping by PCR-RE and TaqMan (R) Probe Assays / R. A. Allen // *Genet. Test.* — 2007. — Vol. 11, N 2. — P. 167-173.

138. *The heritability of plasma homocysteine, and the influence of genetic variation in the homocysteine methylation pathway* / A. Siva, M. De Lange, D. Clayton [et al.] // *QJM*. — 2007. — Vol. 100, N 8. — P. 495-499.

139. *Van der Linden I. J.* The methionine synthase reductase 66A>G polymorphism is a maternal risk factor for spina bifida / I. J. van der Linden // *J. Mol. Med.* — 2006. — Vol. 84, N 12. — P. 1047-1054.

140. *Muthumala A.* European differences in the association between ACE I/D polymorphism and incidence of MI may be explained by gene-lipid interaction / A. Muthumala, J. Cooper, S. E. Humphries // *Atherosclerosis*. — 2006. — Vol. 189, N 2. — P. 474-477.

141. *Liu V. W.* Cardiovascular roles of nitric oxide: A review of insights from nitric oxide synthase gene disrupted mice / V. W. Liu, P. L. Huang // *Cardiovasc. Res.* — 2007. — Vol. 192, N 2. — P. 521-525.

142. *NFKB1* promoter variation implicates shear-induced eNOS gene expression and endothelial function in pre and stage I hypertensives / J. Y. Park, I. K. Farrance, N. M. Fenty [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2007. — Vol. 97, N 4. — P. 132-135.

143. *Arginine* vasopressin increases iNOS-NO system activity in cardiac fibroblasts through NF-kappaB activation and its relation with myocardial fibrosis / Y. H. Fan, L. Y. Zhao, Q. S. Zheng [et al.] // *Life Sci.* — 2007. — Vol. 81, N 4. — P. 327-335.

144. *Dell'Omo G.* Lack of association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms, microalbuminuria and endothelial dysfunction in hypertensive men / G. Dell'Omo // *J. Hypertens.* — 2007. — Vol. 25, N 7. — P. 1389-1395.

145. *Elfering S. L.* Biochemistry of mitochondrial nitric-oxide synthase / S. L. Elfering, T. M. Sarkela, C. Giulivi // *J. Biol. Chem.* — 2002. — Vol. 277, N 41. — P. 38079-38086.

146. *Forstermann U.* Expressional control of the 'constitutive' isoforms of nitric oxide synthase (NOS I and NOS III) / U. Forstermann, J. P. Boissel, H. Kleinert // *FASEB J.* — 1998. — Vol. 12, N 10. — P. 773-790.

147. *Lorenz M.* Alternative splicing in intron 13 of the human eNOS gene: a potential mechanism for regulating eNOS activity / M. Lorenz // *FASEB J.* — 2007. — Vol. 21, N 7. — P. 1556-1564.

148. *Hingorani A.* Resolving inconsistency in the results of genetic association studies of cardiovascular disease / A. Hingorani // *Clin. Sci. (Lond)*. — 2004. — Vol. 107, N 3. — P. 251-253.

149. *Coia V.* Analysis of polymorphic sites in the promoter of the nitric oxide synthase 2 gene / V. Coia // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2005. — Vol. 335, N 4. — P. 1123-1131.

150. *Досенко В. Є.* Алельний поліморфізм промоторного гена (T(-786)->C) ендотеліальної NO-синтази як фактор ризику гострого коронарного синдрому / В. Є. Досенко, В. Ю. Загорій, Н. В. Хайтович // *Фізіологічний журнал*. — 2005. — Т. 51, № 1. — С. 72-76.

151. *Scheiner-Bobis G.* Signalling pathways involving sodium pump stimulate endothelin-1 secretion and nitric oxide production in endothelial cells / G. Scheiner-Bobis, A. Eva, U. Kirch // *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*. — 2006. — Vol. 52, N 8. — P. 58-63.

152. *Seddon M.* Cardiomyocytes as effectors of nitric oxide signalling / M. Seddon, A. M. Shah, B. Casadei // *Cardiovasc. Res.* — 2007. — Vol. 75, N 2. — P. 315-326.
153. *Von der Thusen J. H.* Adenoviral transfer of endothelial nitric oxide synthase attenuates lesion formation in a novel murine model of postangioplasty restenosis / J. H. von der Thusen // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2004. — Vol. 24, N 2. — P. 357-362.
154. *Endothelial* nitric oxide synthase genotype and ischemic heart disease: meta-analysis of 26 studies involving 23 028 subjects / J. P. Casas, L. E. Bautista, S. E. Humphries, A. D. Hingorani // *Circulation.* — 2004. — Vol. 109, N 11. — P. 1359-1365.
155. *Polymorphisms* in the endothelial nitric oxide synthase gene may be protective against preeclampsia in a Chinese population / L. K. Chen, C. H. Huang, H. M. Yeh [et al.] // *Reprod. Sci.* — 2007. — Vol. 14, N 2. — P. 175-181.
156. *The endothelial* nitric oxide synthase gene — 786T/C polymorphism is a predictive factor for reattacks of coronary spasm / T. Nishijima, M. Nakayama, M. Yoshimura [et al.] // *Pharmacogenet. Genomics.* — 2007. — Vol. 17, N 8. — P. 581-587.
157. *Тихонова С. А.* Полиморфизм генів ендотеліальної NO-синтази, рецепторів ангиотензину 1-го типу, синтази альдостерона і морфофункціональне состояние серцево-судинної системи у чоловіків молодого віку з різними рівнями АД / С. А. Тихонова // *Український кардіологічний журнал.* — 2007. — № 5. — С. 39-44.
158. *Tikhonova S. A.* Association of endothelium NO-synthase gene polymorphism with level of blood pressure and hereditary anamnesis of hypertension in young men / S. A. Tikhonova, K. V. Litovkin // *Conference Hypertension.* — Berlin, 2008. — Abstract 00861.
159. *Endothelial* Nitric Oxide Synthase Glu298Asp Gene Polymorphism is Associated with Hypertensive Response to Exercise in Well-Controlled Hypertensive Patients / J. S. Kim, J. R. Cho, S. S. Park [et al.] // *Yonsei. Med. J.* — 2007. — Vol. 48, N 3. — P. 389-395.
160. *Polymorphisms* of the endothelial nitric oxide synthase gene — no consistent association with myocardial infarction in the ECTIM study / O. Poirier, C. Mao, C. Mallet [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* — 1999. — Vol. 29, N 4. — P. 284-290.
161. *A novel* allele of eNOS gene in the Italian population: the actual essence of intron 4 polymorphism / P. Bolli, E. Sticchi, R. Abbate, C. Fatini // *Nitric Oxide.* — 2007. — Vol. 16, N 3. — P. 392-394.
162. *Dancu M. B.* Coronary endothelium expresses a pathologic gene pattern compared to aortic endothelium: correlation of asynchronous hemodynamics and pathology *in vivo* / M. B. Dancu, J. M. Tarbell // *Atherosclerosis.* — 2007. — Vol. 192, N 1. — P. 9-14.
163. *Independent* risk factor for moderate to severe internal carotid artery stenosis: T786C mutation of the endothelial nitric oxide synthase gene / G. Ghilardi, M. Biondi, O. Turri [et al.] // *Clin. Chem.* — 2002. — Vol. 48, N 7. — P. 989-993.
164. *Lack* of association between eNOS gene polymorphisms and ischemic heart disease in the Spanish population / M. Via, A. Lopes-Alomar, N. Valveny [et al.] // *Am. J. Med. Genet.* — 2003. — Vol. 116, N 3. — P. 243-248.
165. *Effect* of nitric oxide synthase inhibition on haemodynamics and outcome of patients with persistent cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction: a phase II dose-ranging study / V. Dzavik, G. Cotter, H. Reynolds [et al.] // *Eur. Heart. J.* — 2007. — Vol. 28, N 9. — P. 1109-1116.
166. *Endothelial* nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of silent brain infarction / J. Song, O. J. Kim, H. S. Kim [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* — 2010. — Vol. 25, N 5. — P. 819-823.
167. *Association* analyses between genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in Japanese: The Suita Study / Y. Tsujita, S. Baba, R. Yamauchi [et al.] // *J. Hypertens.* — 2001. — Vol. 19, N 11. — P. 1941-1948.
168. *Nakayama M.* Vasodilatation by nitric oxide / M. Nakayama // *Nippon Rinsho.* — 2004. — Vol. 62, Suppl. 9. — P. 488-492.

169. *Reitsma P. H.* Past and future of genetic research in thrombosis / P. H. Reitsma, F. R. Rosendaal // *J. Thromb. Haemost.* — 2007. — Suppl. 1. — P. 264-269.
170. *Cooper P. C.* An overview of methods for detection of factor V Leiden and the prothrombin G20210A mutations / P. C. Cooper, S. M. Rezende // *Int. J. Lab. Hematol.* — 2007. — Vol. 29, N 3. — P. 153-162.
171. *Association of genetic variations with nonfatal venous thrombosis in postmenopausal women* / N. L. Smith, L. A. Hindorff, S. R. Heckbert [et al.] // *JAMA.* — 2007. — Vol. 297, N 5. — P. 489-498.
172. *Remkova A.* Diagnostic approach to hypercoagulable states / A. Remkova // *Bratisl. Lek. Listy.* — 2006. — Vol. 107, N 8. — P. 292-295.
173. *Screening for inherited thrombophilia might be warranted among Eastern Mediterranean sickle-beta-0 thalassemia patients* / H. Isma'eel, M. S. Arnaout, W. Shamseddeen [et al.] // *J. Thromb. Thrombolysis.* — 2006. — Vol. 22, N 2. — P. 121-123.
174. *Gene transfer of CFTR to airway epithelia: low levels of expression are sufficient to correct Cl-transport and overexpression can generate basolateral CFTR* / S. L. Farmen, P. H. Karp, P. Ng [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* — 2005. — Vol. 289, N 6. — L1123-1130.
175. *Goodman B. E.* CFTR in cystic fibrosis and cholera: from membrane transport to clinical practice / B. E. Goodman, W. H. Percy // *Adv. Physiol. Educ.* — 2005. — Vol. 29, N 2. — P. 75-82.
176. *Este J. A.* HIV entry inhibitors / J. A. Este, A. Telenti // *Lancet.* — 2007. — Vol. 370, N 9581. — P. 81-88.
177. *Anti-HIV agents. Getting to know your co-receptors* // *Treatment Update.* — 2007. — Vol. 19, N 3. — P. 1-2.
178. *Looking back at entry inhibition. CCR5 blockers in GMHC Treatment issues, 1996-2006* // *GMHC Treat. Issues.* — 2006. — Vol. 20, N 8-12. — P. 4-7.
179. *Freitas T.* Frequency of the CCR5-delta32 mutation in the Atlantic island populations of Madeira, the Azores, Cabo Verde, and Sao Tome e Principe / T. Freitas, A. Brehm, A. T. Fernandes // *Hum. Biol.* — 2006. — Vol. 78, N 6. — P. 697-703.
180. *Schliekelman P.* Kin selection and evolution of infectious disease resistance / P. Schliekelman // *Int. J. Org. Evolution.* — 2007. — Vol. 61, N 6. — P. 1277-1288.
181. *Genetic polymorphisms in the chemokine and chemokine receptors: impact on clinical course and therapy of the human immunodeficiency virus type 1 infection (HIV-1)* / E. M. Reiche, A. M. Bonametti, J. C. Voltarelli [et al.] // *Curr Med Chem.* — 2007. — Vol. 14, N 12. — P. 1325-1334.
182. *O'Neal R.* CCR5 inhibitors: up and coming new agents / R. O'Neal // *BETA.* — 2007. — Vol. 19, N 2. — P. 15-19.
183. *Сравнение частоты мутации CCR5del32 в гене CCR5 у русских, тувинцев и в различных группах ВИЧ-инфицированных* / С. А. Апрятин, Э. Р. Рахманалиев, И. А. Николаева [и др.] // *Генетика.* — 2005. — Т. 41, № 11. — С. 1559-1562.
184. *Распределение ВИЧ-протективных аллелей (CCR5delta32, CCR2-64I и SDF1-3'A) в выборках русских, украинцев и белорусов* / Г. М. Кожекбаева, Т. А. Бородин, С. А. Боринская [и др.] // *Генетика.* — 2004 — Т. 40, № 10 — С. 1394-1401.
185. *Prevalence of alleles associated with HIV resistance in Russia* / G. S. Ryabov, E. V. Kazennova, M. R. Bobkova, A. F. Bobkov // *Genet. Test.* — 2004. — Vol. 8, N 1. — P. 73-76.
186. *Analysis of CCR5Delta32 geographic distribution and its correlation with some climatic and geographic factors* / S. A. Limborska, O. P. Balanovsky, E. V. Balanovska [et al.] // *Hum. Hered.* — 2002. — Vol. 53, N 1. — P. 49-54.
187. *Effects of antithrombin on Binswanger's disease with antiphospholipid antibody syndrome* / I. Akiguchi, H. Tomimoto, M. Kinoshita [et al.] // *Neurology.* — 1999. — Vol. 52. — P. 398-401.
188. *Coexistence of familial antiphospholipid syndrome and factor V Leiden: impact on thrombotic diathesis* / B. Brenner, S. Vulfsons, N. Lanir, M. Nahir // *Brit. J. Haemat.* — 1996. — Vol. 94. — P. 166-167.

189. *Familial* association of the lupus anticoagulant / T. Exner, S. Barber, H. Kronenberg, K. Rickard // *Brit. J. Haemat.* — 1980. — Vol. 45. — P. 89-96.
190. *Visual* disturbances and pathologic ocular findings in primary antiphospholipid syndrome / Y. Gelfand, D. Dori, B. Miller, B. Brenner // *Ophthalmology.* — 1999. — Vol. 106. — P. 1537-1540.
191. *Complement* C5a receptors and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome / G. Girardi, J. Berman, P. Redecha [et al.] // *J. Clin. Invest.* — 2003. — Vol. 112. — P. 1644-1654.
192. *Familial* antiphospholipid antibody syndrome: criteria for disease and evidence for autosomal dominant inheritance / N. Goel, T. L. Ortel, D. Bali [et al.] // *Arthritis Rheum.* — 1999. — Vol. 42. — P. 318-327.
193. *Hellan M.* Familial lupus anticoagulant: a case report and review of the literature / M. Hellan, E. Kuhnel, W. Speiser // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* — 1998. — Vol. 9. — P. 195-200.
194. *Typical* mitral stenosis found in a systemic lupus erythematosus patient with a positive lupus anticoagulant. Is there a pathogenic link? / S. Hoshida, K. Kario, R. Ooshima [et al.] // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* — 1998. — Vol. 9. — P. 211-212.
195. *Familial* antiphospholipid syndrome and HLA-DRB gene associations / N. Hudson, L. Busque, J. Rauch [et al.] // *Arthritis Rheum.* — 1997. — Vol. 40 — P. 1907-1908.
196. *Mackie I. J.* Familial lupus anticoagulants / I. J. Mackie, C. Colaco, S. Machin // *Brit. J. Haemat.* — 1987. — Vol. 67. — P. 359-363.
197. *Familial* occurrence of the antiphospholipid syndrome / F. Matthey, K. Walshe, I. Mackie, S. J. Machin // *J. Clin. Path.* — 1989. — Vol. 42. — P. 495-497.
198. *Miserochchi E.* Ocular features associated with anticardiolipin antibodies: a descriptive study / E. Miserochchi, S. Baltatzis, C. Foster // *Am. J. Ophthalm.* — 2001. — Vol. 131. — P. 451-456.
199. *Lundblad Roger L.* Development and Application of Biomarkers (Protein Science) / Roger L. Lundblad. — 1 ed. — N. Y. : CRC Press LLC, 2010. — 480 p.

Розділ 4. Роль геноміки в розвитку молекулярної епідеміології

THE ROLE OF GENOMICS IN THE DEVELOPMENT OF MOLECULAR EPIDEMIOLOGY

The short history of the development of genomics and other “omics”, bioinformatics, the content of this scientific field is given. Their significance for practical medicine is emphasized. A special attention is dedicated to the role of genomics in the development of molecular epidemiology.

Одне з основних завдань медицини XXI ст. — зупинити стрімке розповсюдження соціально значущих для багатьох країн захворювань, таких як хвороби серцево-судинної системи, цукровий діабет, онкологічні захворювання тощо. Що необхідно, щоб розв'язати це завдання? Найбільш важливі експерти вважають таке:

а) своєчасно визначати генетичну схильність до цих та інших захворювань;

б) з високим ступенем ймовірності обчислювати ризик виникнення патології, коли ще немає симптомів хвороби;

в) проводити моніторинг реакції організму на лікування та хірургічне втручання, вимірюючи концентрацію особливих молекул — біомаркерів;

г) створити нові високоточні лікарські засоби, спрямовані на молекули-мішені, які мають відношення до початку розвитку патологічного процесу.

Наприкінці XX ст. дослідження у галузі молекулярної біології та створення принципово нових технологій і методів дозволили розпочати розшифровку структури геному не тільки прокариот, але й складних еукаріотичних багатоклітинних організмів, включно ссавців. Саме у процесі цих досліджень і зароджується новий науковий напрям, який дістав назву геноміка [1]. Вона стала теоретичним підґрунтям для розв'язання зазначених практичних завдань.

Геноміка — наука, яка вивчає структуру та функцію генів. Вона інвентаризує гени, створюючи геномні карти живих істот. Зародження цієї науки пов'язують з

початком роботи над міжнародним проектом «Геном людини» (HUP), завдяки якому було розшифровано геном людини і розпочато систематичне вивчення невідомих раніше механізмів його функціонування. Робота над проектом повністю завершилась у 2003 р. визначенням близько 3 млрд нуклеотидів у геномі людини та створенням фізичних і генетичних карт геному. Кожна ділянка геному секвенувалася тричі, і рівень помилок був не більшим ніж 1 на 10 000 нуклеотидів. Виявилося, що завершення цієї програми стало тільки початком вивчення геному. Необхідно картувати всі гени та виявляти їх функцію, беручи до уваги всі різновиди одного гена [2]. Картографування і аналіз генів дозволить порівняти їх у популяціях людей, що дасть можливість з'ясувати ті відмінності, які нагромадилися в кожному гені під час еволюції *H. sapiens* [3].

Які ж можливості надала розшифровка геному? Тепер відома послідовність нуклеотидів усіх молекул ДНК повного складу хромосом людини. До геному входить близько 30 000 генів, а не 100 000, як вважали раніше. Виявилося, що у такого складного організму, як людина, генів усього удвічі більше, ніж у черв'яка-нематоди. При тому, що у людини клітин $\approx 10^{14}$, а у *C. elegans* близько 10^3 , а має вона 19 000 генів.

Яким же чином кодуються 300 000 білків, що має організм людини? Так, один із механізмів полягає у збільшенні функціонального навантаження на один ген при

ускладненні будови організму в процесі еволюції. Таким чином, що більш складний організм, то важче передбачати функцію білка, виходячи зі структури гена.

При вивченні геному людини дослідники встановили низку цікавих фактів. Наприклад, геном людини на 90 % схожий на геном миші, більш ніж на 95 % — на геном шимпанзе. Гени, які кодують білки, займають не більше 1,5 % загальної довжини геному, а решта 98,5 % довжини хромосом не містить інформаційного змісту (так звана інформаційна порожнеча). Проте у подальшому було встановлено, що «беззмістовні» ділянки ДНК дуже важливі для клітин людини. Так, вони слугують захистом від небезпечних вірусів, які можуть вбудовувати свою ДНК у геном людини. «Порожні» кінцеві ділянки хромосом та їх центромери важливі для збереження виду. За їх допомогою хромосоми завжди пізнають одна одну за принципом «ключ — замок». У «порожніх» регіонах ДНК розташовані також транспозони, тобто ділянки, що змінюють свою позицію у геномі. Причому міняють вони своє місце розташування не безладно, а в певні ділянки.

Карта топографії генів на хромосомах нагадує нашу Землю з висоти польоту літака. Більша частина генів формує великі та малі «міста», які розділені нежиттєвим простором. Чоловіча статеві хромосома, бідна на гени, нагадує Візантійську імперію, яка пережила епоху розквіту. Протягом минулого часу багато генів покинули цю територію і перебралися в інші «країни». І навпаки, 19-та хромосома схожа на «столицю» — весь інформаційний мотлох і старі конструкції викинуті. У неї практично немає ділянок, не забудованих генами, що несуть інформацію про білки. Тепер зрозуміло, чому аномалії 19-ї хромосоми викликають смерть плода ще в утробі матері.

Для вчених став більш зрозумілим процес виникнення нових генів. Вони не з'являються з інформаційної порожнечі, а формуються в надрах старих генів. Встановлено, що «головними» каталізаторами інформаційної «новини» і «псевдоінформації» є фрагменти генів ретровірусів, які дістали

назву «мобільні гени». Вони можуть розрізати ДНК на дрібні частки і зшивати їх знову в новому порядку, тобто мобільні гени з високою ефективністю «тасують» лінійний текст генів, як колоду карт. У переважній більшості випадків таке «втручання» викликає руйнування суті та порушення функції гена. Дуже рідко «перебудова» ДНК тягне за собою появу «інформаційної новини», яка приводить до появи білка з новими ділянками. Так сталося з генами імуноглобулінів, які походять від одного гена-предка. Кожний ген імуноглобулінів розчленований мобільними генами на змістові мікрочастинки, які перемішані з беззмістовними. Таким чином, еволюція перетворила один ген на конвеєр, що поставляє в клітину серію іРНК. У кожену іРНК потрапляють різні змістові фрагменти одного й того ж гена. Мобільні гени у геномі людини є також причиною спадкових хвороб, оскільки, укорінюючись, вони руйнують будову змістового тексту ДНК.

Слід також наголосити, що при вивченні геному звернули увагу на дрібні відміни, які раніше не цікавили дослідників. Вони дістали назву «сингулярний (одиничний) нуклеотидний поліморфізм» (від англ. — SNP) або скорочено «сніп». Це відмінність за одним з нуклеотидів триплетного коду ДНК. Загалом вони трапляються з частотою 1/1000 нуклеотидів. Наразі їх інтенсивно вивчають, тому що це важливо для розуміння ролі спадковості у схильності до різних захворювань.

На підґрунті цих та інших відкриттів виникла ідея створення генетичного паспорта людини.

Слід зазначити, що молекулярно-біологічні та біоінформаційні технології потребують значних фінансових витрат. Так, перша розшифровка геному людини (проект HUGO) коштувала 30 млн доларів США. А всього на розробку технологій секвенування геному з початку 80-х років було витрачено більше 6 млрд доларів. Завдяки розробці та введенню в дію автоматичних процесів у прочитання геному і максимальній інформатизації усіх його етапів, вартість розшифровки геному

Дж. Уотсона (творця моделі молекули ДНК та ініціатора проекту HUGO) сягала 1 млн доларів. Нині геном людини можна прочитати за два тижні, витративши близько 30 тис. доларів. Вчені, які працюють у цьому напрямі, поставили завдання: в наступні 10 років знизити вартість до 1 тис. доларів і скоротити час секвенування до 2–3 днів.

У зв'язку із зазначеним виникає питання: у чому полягає необхідність генетичного паспорта? Передбачається, що генетичний паспорт дасть змогу виявити мутації, які відповідають за ті чи інші спадкові хвороби або підвищують виникнення багатьох соціально значущих захворювань (серцево-судинні, онкологічні, діабет, шизофренія тощо). Так, значний прогрес досягнуто в ідентифікації мутацій, які часто призводять до ракових захворювань. Технології, що застосовують в таких дослідженнях, ґрунтуються на ДНК-мікрочипах (DNA-microarray).

Незважаючи на стрімкий прогрес у вивченні геному людини, створення генетичного паспорта — справа майбутнього. Найближчим часом більш імовірно створення так званого реального паспорта, до якого будуть внесені певні ідентифіковані гени. Наприклад, гени, що відповідають за схильність до конкретного захворювання, вносять до генетичного паспорта схильності. Особливості генів, що відповідають за певні метаболічні шляхи, — до метаболічного паспорта. Подібно складаються екологічний, фармакогенетичний паспорти тощо.

Вивчення генного алелізму важливо для встановлення індивідуальної чутливості до різних захворювань. Прикладом може бути ген *p53*, який захищає організм людини від багатьох видів раку. Його алель, який має незначні зміни в будові, не виконує захисних функцій. Якщо у парі хромосом обидва алелі функціонально нормальні, то клітина захищена від ураження раком. Навіть один алель здатний захистити клітину, але при його випадковій мутації ризик злоякісного переродження дуже великий. Люди чомусь народжуються з одним нормальним алелем.

У зв'язку з розшифровкою геному виникли певні проблеми, які мають не тільки біологічне чи медичне, але й соціальне значення.

1. Гени, які кодують білки та беруть участь у регуляції дії генів у процесі розвитку організму, становлять лише 3 % геному. Мало відомо про функцію іншої частини ДНК. Близько 10 % геному займають Ала-елементи (довжина кожного з них приблизно 300 п. н.), що невідомо яким шляхом з'явилися тільки у приматів. У людини вони розмножилися до півмільйона копій і розповсюджені по хромосомах без певного порядку, то створюючи скупчення, то перериваючи гени.

Таким чином, секвенування геному людини не дозволило одразу ж розв'язати фундаментальні проблеми молекулярної біології. Вченим доведеться виконати велику роботу з визначення кодуючих ділянок як генів за формальними ознаками; встановити, чи синтезуються на них конкретні генні продукти та що вони собою являють.

2. Після розшифровки геному стало очевидним, що недостатньо знати порядок розташування генів та їх функції. Наступне більш складне завдання, яке необхідно розв'язати, — виявити характер зв'язків між ними, що визначає роботу генів у конкретних внутрішніх і зовнішніх умовах. Саме порушення таких зв'язків і регуляції функції генів впливає на розвиток багатьох хвороб. У цьому напрямку доведеться працювати, мабуть, ще не один рік, об'єднуючи зусилля багатьох лабораторій.

3. Вченим необхідно буде дати точне визначення поняттю «геном». Останнім часом у літературі при вживанні терміну «геном» часто мають на увазі генетичний матеріал, закладений у структурі ДНК. Однак генетика визначає терміном «геном» не тільки структуру та розташування генів, але і взаємодію їх, характер зв'язків між генами, від яких залежить напрям розвитку організму та його функціонування.

4. Значну проблему, з точки зору біології, може створити реалізація ідеї «генетичного паспорта», в якому будуть зазна-

чені мутації, наявні у конкретної особи. Великий інтерес до втілення в життя «генетичного паспорта» проявляють страхові компанії, які виділяють значні кошти на розробку ДНК-тестів стосовно низки захворювань. У тому разі якщо майбутні батьки — носії певної мутації — не погоджуються на переривання вагітності і у них народжується хвора дитина, то їм можуть відмовити у соціальній підтримці. Реальним прикладом, який вказує на виникнення важких соціальних проблем, слугує паспортизація афро-американців США на мутацію гена гемоглобіну, яка викликає серпоподібно-клітинну анемію. На цю програму витратили більше 100 млн доларів, а в результаті у здорових людей виник комплекс вини та з'явилася нова форма сегрегації у вигляді відмови у прийомі на роботу.

Перелік проблем можна продовжити, але слід зазначити, що результати секвенування геному людини були зразу ж використані у практичній медицині. Так, в останнє десятиріччя значно зменшилася захворюваність на таласемію, яка розповсюджена у багатьох країнах. ДНК-діагностика батьків, плода і немовлят у родинах із чутливістю до таласемії дозволяє або своєчасно перервати вагітність, або своєчасно розпочати лікування дитини. З'явилася реальна перспектива лікування генетичних захворювань. На цей час ідентифіковано багато генів, з дефектами яких пов'язані спадкові захворювання (муковісцидоз, м'язова дистрофія Дюшенна, хорія Гентінгтона, хвороба Альцгеймера, рак молочної залози). Ці гени розшифровані та клоновані. Значний прогрес досягнуто у вивченні структури 22-ї хромосоми. Виявилось, що з дефектами розташованих в ній генів мають зв'язок більш ніж 30 хвороб, включаючи шизофренію, мієлолейкоз [4].

Найбільш надійний спосіб лікування таких хворих — заміна дефектних генів на нормальні. Проте розв'язання проблеми цим шляхом поки що не дає реальних результатів. Недостатньо точно знати локалізацію генів у геномі. Необхідно, щоб ген потрапив у більшість клітин організму і

включився в роботу складної системи генних мереж. Незважаючи на всі труднощі, дослідження у цьому напрямі проводяться в багатьох наукових центрах світу і, безумовно, зазначені перешкоди має бути подолано.

У результаті секвенування ідентифіковано нові гени і встановлені ті, що відповідають за чутливість до різних хвороб, наприклад, алкоголізму, наркоманії, токсикоманії. Це дає можливість проводити ранню, навіть пренатальну, діагностику чутливості та планувати профілактичні заходи.

Розшифровка геному привела до перетворення фармакогенетики, яка ґрунтується на феноменології різної чутливості людей до ліків, у фармакогеноміку, що вивчає особливості будови генів (ДНК), які впливають на метаболізм лікарських засобів. Це дає можливість створювати ліки для різних груп хворих, скоротити час від створення засобу до його клінічного застосування і, найголовніше, призначити персональну дозу лікарського засобу [5].

Після завершення секвенування геному людини значно збільшилася чутливість «генної дактилоскопії», тому що з'явилася можливість використовувати не тільки специфічні маркери ДНК, але й поліморфізм одиничних нуклеотидів (SNP).

Прикладом важливих молекулярно-епідеміологічних досліджень з використанням ДНК-діагностики може бути обстеження всього населення Ісландії, чисельність якого становить 270 тис. чоловік. У цій країні здавна документують шлюбні відносини. Комплексні генетичні дослідження, які включають і результати геномного аналізу, дозволили створити базу даних, в якій зберігається інформація про стан здоров'я нації, типові генетичні ознаки, у тому числі й ті, що пов'язані з найбільш розповсюдженими в країні хворобами. Таким чином, виникла унікальна можливість для виявлення та клонування генів, дефекти в яких є підґрунтям для розвитку тієї чи іншої хвороби.

Геном людини вирізняється високою консервативністю. Виникаючі мутації можуть пошкодити його, що призводить до

виникнення дефекту чи загибелі організму. Однак мутації можуть бути і нейтральними. Якщо такі мутації розповсюджуються в популяції з частотою більше ніж 1 %, то у цьому разі вони вважаються поліморфізмом гена. У геномі людини виявлено велику кількість ділянок, які відрізняються 1–2 нуклеотидами, і ці особливості передаються наступним поколінням. Це має важливе значення для молекулярної епідеміології, оскільки створює матеріальну основу генетики популяцій. Крім того, при розробці відповідних технологій, які виключають помилки при секвенуванні геному, можна буде ідентифікувати окремі організми.

Можливість вивчення варіабельності геному на рівні окремих нуклеотидів започаткувала новий науковий напрям — етногеноміку, яка вивчає генетичні ознаки різних етнічних груп, що має значення для етнографії, історії, лінгвістики, археології та медицини. Вивченням ДНК стародавніх часів займається палеогеноміка. Яскравим прикладом є розшифровка ДНК неандертальця.

До складу геноміки входять такі її головні розділи:

- 1) структурна геноміка — зміст і організація геномної інформації;
- 2) функціональна геноміка — реалізація інформації від гена до ознаки;
- 3) порівняльна геноміка — порівняння змісту й організації геномів різних організмів (рис. 4.1).

Структурна геноміка вивчає послідовність нуклеотидів — сиквенс (англ. sequence — послідовність), повністю з першого до останнього в хромосомі. Дослідники, які працювали над проектом HUP, пішли шляхом визначення послідовності нуклеотидів у достатньо коротких відрізках ДНК (>1000 нуклеотидів). У геномі людини $3 \cdot 10^9$ п. н.; його розрізали на фрагменти, які можна було прочитати, а потім вивчені відрізки поновлювали в єдину послідовність і визначали їх перекривання.

Функціональна геноміка вивчає функції відкритих генів та «генних мереж» при розвитку тканини, органів у нормі та при різних захворюваннях [6].

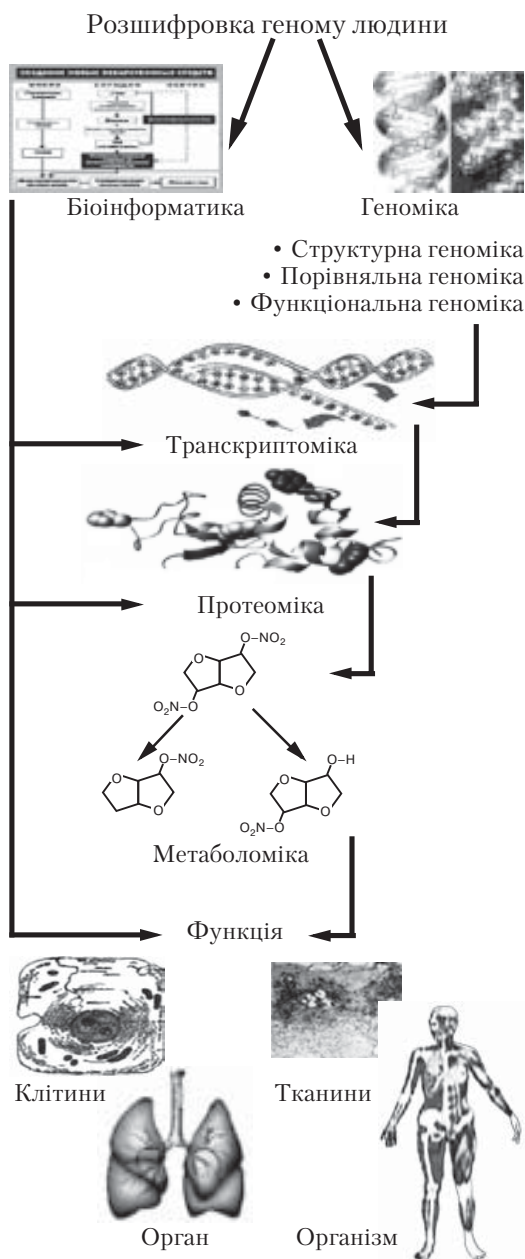


Рис. 4.1. Від геноміки до структури і функції організму

З-поміж більш ніж 30 тис. генів, які ідентифіковані на фізичній карті геному людини, у функціональному відношенні вивчено близько 8 тис. генів. Невідомою лишається функція решти картованих і ще

некартованих генів. Дослідження у вказаному напрямі становлять основу програми «функціональна геноміка». Для цього використовують методи спрямованого мутагенезу ембріональних стовбурових клітин, створення банків кДНК різних тканин і органів на різних стадіях онтогенезу, вивчення функцій некодуючих ділянок ДНК, експресії генів тощо. Інтенсивно вивчаються особливості експресії генів у різних тканинах і органах, створюються ДНК-бібліотеки. Японські дослідники завершують характеристику ДНК-бібліотеки для 300 типів тканин людини.

Дані геноміки в комбінації з вивченням транскрипції та трансляції дають важливі результати для оцінки варіантів експресії [7].

Більш складне завдання — визначення функціонування системи їх регуляції. Велику надію покладають на поліморфізм одиничних нуклеотидів (SNPs), або сніпи, які виступають у ролі генетичних маркерів. Наразі триває робота над створенням загальної карти сніпів. Вважається, що за весь час існування *H. sapiens* накопичено достатню кількість SNPs (приблизно одна мутація на тисячу нуклеотидів). Встановлено, що заміна нуклеотидів, яка виникає в регуляторних ділянках ДНК поблизу відповідних структурних генів (наприклад, у промоторах), суттєво впливає на експресію цих генів, що може підвищити ризик виникнення у людини різних захворювань (злоякісні пухлини, діабет і багато інших). Зазначені мутації передаються наступному поколінню. Такі SNPs, що пов'язані з розташованими поблизу генами, слугують генетичними маркерами, за допомогою яких можна точно встановити хромосомну локалізацію генів, що відповідають за чутливість до певної хвороби. Ця дійсно складна та копітка робота, яку вчені виконують з середини 90-х років минулого століття і до наших днів у багатьох лабораторіях світу, — один із шляхів до «персоналізованої медицини». На початку складання зведеної карти сніпів її автори з проекту HUP вважали, що достатньо буде визначити 150 тис. SNPs для проведення порівняльного аналізу. Надалі кількість знайде-

них SNPs збільшилася до 500 тис., а для їх систематизації та пошуку зв'язків із певними хворобами було створено ще один консорціум.

Наразі стало зрозумілим, що необхідно буде проаналізувати регуляторні ділянки ДНК, зміни в яких вносять свій вклад в індивідуальні особливості людини. Одним із варіантів таких змін може бути метилювання регуляторних ділянок (приєднання до них CH_3 -груп). Такі трансформації в регуляторних ділянках і, відповідно, зміни активності структурних генів є предметом епігенетики [8]. Європейський епігенетичний консорціум, до складу якого увійшли кілька відомих наукових центрів, ідентифікує й аналізує різні варіанти 400 тис. ділянок геному людини, які можуть метилюватися.

Розгортання програми HUP із секвенування геному людини дало можливість розшифрувати геноми спочатку багатьох прокаріот, а потім і деяких високоорганізованих істот, включно до приматів. Це привело до виникнення порівняльної геноміки. З'явилася можливість порівнювати цілісні геноми. При їх порівнянні виявляють спільні гени, а також виділяють «власні гени».

Багато важливих ділянок геному мало змінюються у процесі еволюції, тому їх функції, які встановлено в експериментальних тварин, є такими ж і у людини. Подібні ділянки у геномах різних організмів можна виявити за допомогою комп'ютерного аналізу. Найбільш консервативними є ділянки, що кодують білки. У багатьох важливих білках певні ділянки не змінювалися протягом сотень мільйонів, і навіть мільярдів, років еволюції від примітивних прокаріот до людини. Ця особливість дозволяє знаходити гени при порівнянні геномів віддалених один від одного видів. За вивченими генами нематоди або мухи можна передбачити, а потім і перевірити функцію відповідних генів у людини. І, навпаки, за генами людини, зміни в яких призводять до захворювань, можна моделювати патологічний процес у тварин, як це роблять, наприклад, з генами, мутації в яких викликають хворобу Альцгеймера.

Під час роботи над програмою “HUP” комп’ютерний аналіз мільйонів послідовностей ДНК перетворився у самостійну наукову галузь — біоінформатику. Дослідження за допомогою комп’ютерних технологій дозволили розшифрувати низку механізмів у генній регуляції життєдіяльності клітин. Для цього використовують спеціальні програми, наприклад для статистичного аналізу розподілу нуклеотидів у ДНК. У генетичному алфавіті всього чотири літери: А, Г, Т, Ц. Виявилось, що в кодуючих («змістових») ділянках ДНК сполучення цих букв підкоряється певним правилам, а в проміжних між генами ділянках частота їх близька до випадкової.

У прокаріот знайти гени набагато легше, ніж в еукаріот, оскільки вони становлять 80–90 % геному. Крім того, ділянка гена, яка кодує білок, має неперервну рамку зчитування. Тому якщо знайдено початкову точку відліку, то ген можна «прочитати», дійшовши до стоп-кодону. В еукаріот все набагато складніше, тому що гени, які кодують білки, становлять не більше 5 % усього геному. Кодуючі ділянки — екзони — перериваються некодуючими інтронами. В різних клітинах може бути різне поєднання екзонів одного гена. Проте вчені все ж розв’язали цю проблему. Певне сполучення нуклеотидів вказує на належність ділянки ДНК до екзона або інтрона, а межі інтронів та екзонів визначені в ДНК спеціальним сполученням нуклеотидів.

Відомо, що пошук одного гена займає тиждень та місяці роботи наукової лабораторії. Якщо ж ДНК просеквенована, то комп’ютерні технології дозволяють зробити це за хвилини за наявності відповідних алгоритмів пошуку. Комп’ютерні програми використовують не тільки для пошуку генів, але і регуляторних сигналів у ДНК, передбачення структури та функції білка, його локалізації у клітині для відтворення шляхів метаболізму. Головний напрямок наступних після розшифровки геному досліджень — реконструкція взаємопов’язаних реакцій метаболізму.

Найбільших успіхів геноміка досягла у вивченні спадкової інформації у бактерій. Вже прочитані геноми десятків бактерій, у

тому числі і збудників тяжких захворювань людини. Розшифровано практично всі гени, відомі їх білкові продукти. Наприклад, у *M. tuberculosis* виявлено важливі для її життєдіяльності ферменти, які відсутні у людини. Це дає можливість пошуку ліків, здатних діяти саме на ці білкові молекули, що може суттєво змінити ситуацію у боротьбі з туберкульозом. Сьогодні за відомими функціями білків будуються основні метаболічні шляхи в бактеріальній клітині. Таким чином, дослідники прямують від геному (послідовність нуклеотидів у ДНК) до характеру метаболічного процесу, що започаткувало ще один напрям досліджень — метаболоміку.

Наступний напрям у вивченні генної експресії — транскриптоміка, до завдань якої належить і знаходження в клітинах інформаційних РНК (іРНК) та розшифровка їх функцій; це вважається одним із перспективних шляхів вивчення роботи генів. Клітина одночасно виробляє велику кількість різних іРНК. Розшифровка цих іРНК дозволить виявити усіх працюючих на цей час генів. Знаходять і впізнають іРНК за допомогою ДНК-мікрочипів. Певна іРНК взаємодіє (гібридується) із своїм геном або його фрагментом в ДНК. У різних клітинах експресуються різні гени, тому картини гібридизації будуть різнитися між цими клітинами. Картина гібридизації генів, що експресуються в клітині, називається патерном гібридизації, а дані про одночасну експресію певного гена в різних клітинах — профілем експресії гена. Картина експресії генів може слугувати критерієм оцінки функціонального стану клітини.

Розвиток геноміки патологічних станів дозволяє не тільки виконувати їх молекулярну діагностику, але й вимірювати інтенсивність синтезу білків, «відповідальних» за розвиток захворювань. З цією метою визначають так звані транскрипційні профілі, що характеризуються експресією всіх генів, активних у досліджуваному матеріалі.

Сенсаційним було відкриття кілька років тому нового класу РНК, що не є ні матричними, ні рибосомними, ні транспорт-

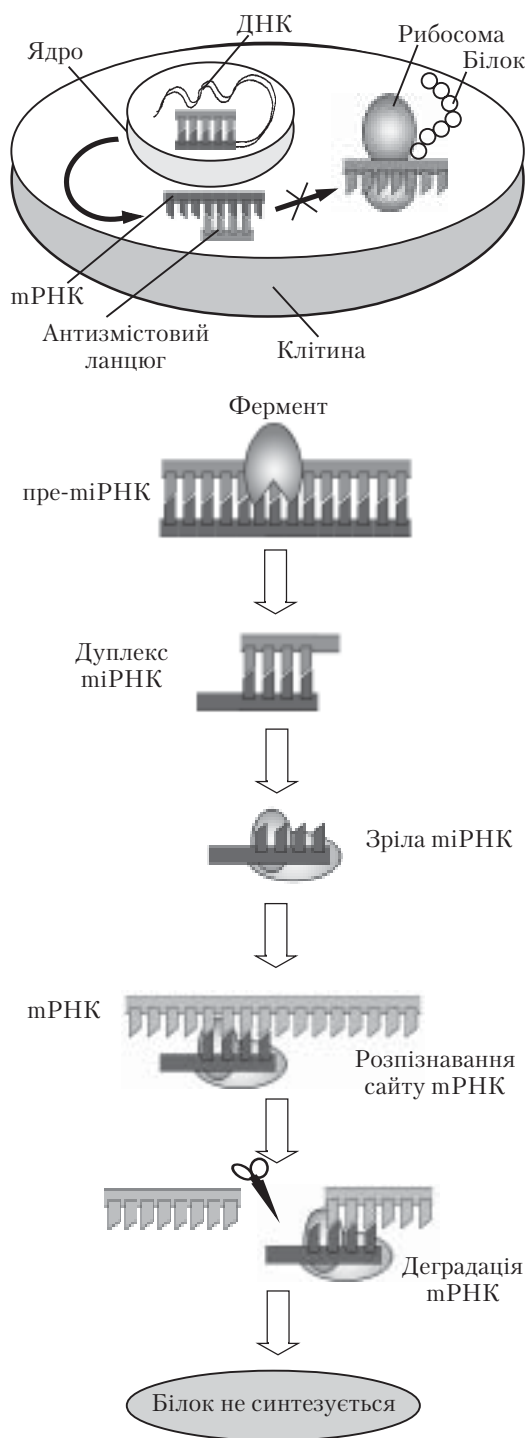


Рис. 4.2. Функція міРНК у клітинах еукаріот

ними РНК. Вони були знайдені в усіх еукаріотичних клітинах і виконують регуляторну функцію — впливають на експресію генів (рис. 4.2).

Ці мікро-РНК (містять близько 20 нуклеотидів) припиняють синтез білків на рівні трансляції відповідних іРНК шляхом одного з трьох відомих механізмів: а) репресія трансляції іРНК; б) розщеплення іРНК; в) прискорення розпаду іРНК (рис. 4.3).

Зміна концентрації мікро-РНК може призводити до різних порушень. Наприклад, надсинтез однієї з них викликає патологію серцевого м'яза. Мутації в трьох інших групах мікро-РНК призводять до порушення ментальних характеристик людини.

Сьогодні мікро-РНК інтенсивно вивчаються для встановлення надійних діагностичних маркерів і мішеней для лікувальних засобів нового покоління.

На основі геноміки виникла також протеоміка. Вона інвентаризує білки реально працюючих «молекулярних машин» у клітині. Наразі є можливість читати й аналізувати всі модифіковані білки. Безпосередньо у патологічно змінених тканинах можна виявити диспропорцію між білками. Протеоміка має набір високотехнологічних методів вивчення білків, за допомогою яких визначають кількість того чи іншого білка у зразках, ідентифікують білок, уточнюють його первинну структуру, виявляють посттрансляційні модифікації. Протеомний аналіз складається з трьох основних етапів. На першому етапі виконується двовимірний електрофорез нормальної та патологічно зміненої тканини, який дозволяє виявити до 10 тис. різних білків. При аналізі електрофореграми можна визначити патологічні зміни у тканинах, а саме які білки і наскільки збільшилися чи зменшилися. Такі білки можуть бути маркерами при будь-якому захворюванні, а також потенційними мішенями для створюваних лікарських засобів. Виявлені білки далі вивчаються на мас-спектрометрі (для визначення молекулярної маси) і на секвенаторі для визначення первинної будови. За один тиждень у середньому можна вивчи-

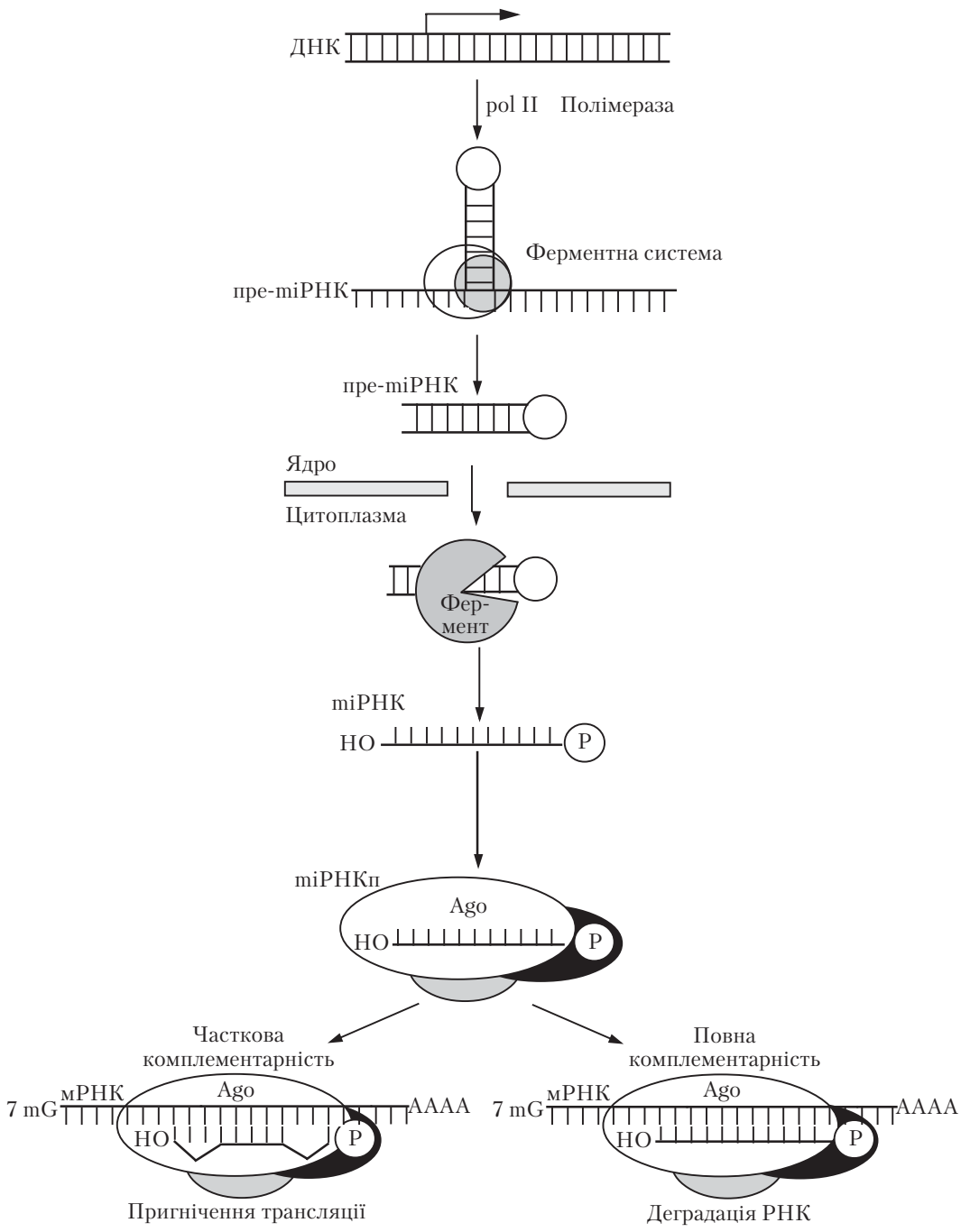


Рис. 4.3. Біогенез і механізми дії міРНК [30]

ти близько 100 білків із точністю до атомів, причому це можна виконати в суміші білків, не розділяючи їх [10; 11].

Дослідження на цьому етапі ускладнюються тим, що за допомогою електрофорезу важко розділити гідрофобні білки. Якраз вони і представляють інтерес, бо до них належать білки-рецептори — основні мішені лікарських засобів. Крім того, молекулярна маса і первинна структура не дають повної уяви про роботу білка, оскільки функціонування білків значною мірою визначається їхньою структурною організацією, яка дуже чутлива до дії факторів середовища, що оточує молекулу білка. Проте одним із перших досягнень протеоміки було дослідження протеомного індексу у жінки-донора, який містив інформацію про 115 тис. білків (із 150 біопатів), що кодовані 12 тис. генів. Це поставило питання про створення «каталога протеїнів». Каталог усіх білків людини спробували скласти ще в 80-х роках, але ці спроби були безуспішними. Така можливість виникла лише після розшифровки геному. У 2001 р. було створено міжнародний консорціум HUPO (Human Proteom Organization), подібний до HUP, одним із основних завдань якого є створення атласу білків людини.

Складність досліджень протеома, крім зазначених раніше, полягає в тому, що сукупність генів у кожній клітині організму однакова (> 30 тис.), але склад білків у різних клітинах індивідуальний. Різниця щодо кількості білків між клітинами може становити кілька порядків. Крім того, на відміну від геному, протеом кожної клітини може змінюватися залежно від її функціонального стану [12].

Протеоміка безпосередньо пов'язана з медициною. Стан білків у клітинах різних органів має важливе значення для діагностики. Захворювання може ініціюватися будь-яким зовнішнім фактором, але дійсна причина хвороби полягає в неправильному функціонуванні білка. Якщо помилка закодована в гені, то її наслідки проявляються на рівні білка, а не самого гена [13].

Білкові маркери вже застосовуються при аналізі протеома в онкології, при сер-

цево-судинних захворюваннях. Як відомо, зростання імовірності виникнення та розвитку хвороб різних органів залежить від мутацій у багатьох генах. Виявляється, що легше їх знаходити шляхом встановлення відповідних змін у білках, що ними кодуються, тобто швидше і дешевше проаналізувати протеом того чи іншого органа людини. Вже створено бази даних стосовно кількох сот білків протеома міокарда, рівні яких змінюються при гострих і хронічних захворюваннях серця та судин. Моніторинг кардіопротеома в декілька разів інформативніший, ніж ЕКГ і гемодинамічні показники.

Завершено реалізацію проекту «Протеом плазми крові», який дозволив ідентифікувати більш ніж 12 000 білків. На наступному етапі планується вивчити протеомі плазми при різних захворюваннях.

Протеоміка передбачає також створення лікарських засобів точної дії. Якщо відомо точна будова активного центра ферменту, з яким пов'язано захворювання і який необхідно пригнітити, то можна моделювати для цього відповідну хімічну речовину. Такі ліки будуть більш дієвими і менш токсичними. Мова йде, в першу чергу, про створення ліків для лікування спадкових захворювань і протипухлинних засобів. Відомо, що на поверхні пухлинних клітин знаходяться білки-маркери, яких немає у нормальних клітин, причому вони відрізняються у кожного типу пухлин. Триває пошук у напрямі створення компонентів лікарських засобів, які впізнаватимуть відповідний білок і зможуть приєднатися до нього, сприяючи проникненню ліків у хвору клітину.

Ще одним із цікавих наукових напрямів, що виникли під впливом геноміки, є метаболоміка, яка вивчає профіль концентрації всіх метаболітів у біологічних зразках. Вона ґрунтується на застосуванні спектроскопії протонного ядерного магнітного резонансу в сполученні з комп'ютерним аналізом зразків. Відразу була продемонстрована висока ефективність цих методів у виявленні вроджених і спадкових порушень метаболізму, спричинених ендогенними й екзогенними факторами, в діа-

гностиці багатьох захворювань; уражень токсичними речовинами; при вивченні реакцій організму на лікарські засоби, харчові продукти тощо.

Метаболоміка увійшла в практику клінік серцево-судинних захворювань, при трансплантації органів, гемодіалізі, хворобах печінки. Один із найважливіших напрямів метаболоміки — це ліпідоміка. Як відомо, порушення ліпідного обміну пов'язані з атеросклерозом, діабетом, старінням, хворобою Альцгеймера та іншими захворюваннями.

Метаболоміка вивчає метаболічні шляхи, які існують у клітинах, у взаємозв'язку з генною активністю і вмістом відповідних білків-ферментів, які контролюють певні етапи кожного метаболічного шляху. Практично всі хвороби супроводжуються порушенням метаболізму. Їх можна виявити за допомогою сучасних методів ще до того, як з'являться клінічні симптоми або змінюються показники рутинних методів лабораторних досліджень.

Метаболічний аналіз полягає у дослідженні патерну метаболізму організму в цілому. Концентрацію тисяч різних метаболітів визначають у плазмі крові, сечі, волозі видихуваного повітря та інших біологічних рідинах за допомогою мас-спектрометрії і ядерного магнітного резонансу. Метаболоміка широко застосовує комп'ютерні методи розпізнавання образів при дослідженні інтегральних показників [14]. Дійсно, не часто трапляється, що є відомою одна речовина — маркер хвороби, а якщо й так, то цінність його може бути сумнівною. Наприклад, рівень холестерину при хворобах серця не завжди відповідає адекватному стану пацієнта. Багато з біохімічних показників, які вказують на ту чи іншу хворобу, недостатні для точної діагностики. Для повної характеристики хвороби необхідні комплекси показників.

Ще наприкінці ХХ ст. вважали, що генетика займається тільки спадковими хворобами. Останні становлять приблизно 2 % від усієї кількості захворювань і тому не є соціально значущими. Інші 98 % ніяк не пов'язували з генами. Більшість із них соціально значущі. Наразі стало зрозумілим,

що при багатьох патологічних станах порушені процеси регуляції експресії генів, що може призвести до розвитку захворювання [15]. Існує два типи хвороб людини, пов'язаних із генетичними факторами. Один із них пояснюється доволі просто: є ген, в якому виникло «ушкодження», що викликає захворювання. Таке ушкодження в генетичному апараті можна «побачити» ще до народження, на ранніх етапах розвитку. Родина може прийняти рішення щодо подальшої долі вагітності. Теоретично такі хвороби можна мінімізувати і вони не будуть значною проблемою для людства. Яскравим прикладом практичних результатів у цьому напрямі може слугувати ліквідація розповсюдженої на о. Сардинія b-таласемії, коли лікарі почали прогнозувати можливість народження хворої дитини, а батьки приймали рішення про переривання вагітності. Частота захворювання знизилась у 25 разів.

Другий тип — це розповсюджені захворювання (серцево-судинні, онкологічні, психічні, інфекційні та ін.). Складність полягає в тому, що в їх виникненні беруть участь багато специфічних генів і численні чинники довкілля. Як правило, розвиток хвороби провокується як ушкодженням певних генів, так і несприятливим фоном навколишнього середовища. При сполученні таких факторів запускаються патогенетичні механізми хвороби [16–18].

Інтенсивно вивчаються також так звані генні мережі. Справа в тому, що кожний розділ (етап) метаболізму в клітині (організмі) контролюється групою взаємозв'язаних генів — «генними мережами». Вираженість перебігу метаболічних процесів у кожної людини відрізняється, тобто норма реакції має різний розмах. При збігу несприятливих обставин порушується порогова межа, і такі люди захворюють. Внаслідок посилення дії зовнішніх факторів поріг чутливості можуть подолати навіть ті люди, які не повинні захворіти [19].

Розшифровка геному сприяла розвитку молекулярної медицини (генетичної медицини). Головна її відмінна риса полягає в тому, що вона повинна стати персоналіфікованою, оскільки геном кожної людини

має яскраву індивідуальність. Оскільки геном індивідуума протягом життя не змінюється, то виявивши у нього будь-яку чутливість, можна здійснювати конкретні профілактичні заходи щодо певних захворювань.

Свого часу вчені приділяли багато уваги «поганим генам», тобто генам, мутації в яких призводять до певних хвороб. Менш активно вивчалися гени, які допомагають людині підтримувати нормальний стан життєдіяльності. Але «погані гени» існують у популяціях людей тисячі років. Мабуть, співіснування усіх генів якимось чином збалансовано і всі вони, можливо, необхідні, проте ясності у цьому питанні поки що немає. Наукові пошуки в даному напрямі ведуться з метою створення генетичного паспорта людини, щоб вона могла знати про ті мутації, які у неї є і які вона може передати своїм нащадкам або які можуть призвести до розвитку хвороб з пізніми проявами. Наразі вчені можуть прогнозувати можливість виникнення таких частих хвороб, як бронхіальна астма, ендометріоз, онкологічна патологія тощо.

У вирішенні питання, що стосується генетичного паспорта, багато технологічних проблем, але ще до втілення його в практичне використання виникли і проблеми етичні. Виконані дослідження показали, що знання про чутливість дозволяють запобігти захворюванню в майбутньому, але вони погіршують сприйняття життя сьогодні.

Молекулярна медицина використовує нуклеїнові кислоти (гени) з метою діагностики, лікування та профілактики спадкових і неспадкових хвороб. На точному аналізі самих генів ґрунтуються діагностика та профілактика, а також точний добір лікарських засобів. Крім того, у генній терапії різних хвороб використовують самі гени або їх продукти.

За даними численних досліджень, частота індивідуальної варіабельності молекулярної структури геномів різних людей наближається до 0,1 %, що становить приблизно 1 млн нуклеотидних замін на геном (SNPs). Вони доволі часто трапляються у самих генах. Такі заміни (поліморфізми)

призводять до того, що синтезуються білки з незвичними (інколи доволі зміненими) властивостями. Функціонально змінені білки (ізоферменти), гормони тощо створюють унікальний патерн кожної людини [20].

Поліморфізми генів не завжди нейтральні. Часто продукти поліморфних генів функціонально менш ефективні, і людина стає більш чутливою до тієї чи іншої хвороби. Причина більшості хвороб — це мутації не окремих генів, а їхнього ряду («генні мережі»), які контролюють певні метаболічні шляхи. Один з основних напрямів предиктивної медицини полягає у виявленні всіх складових компонентів «генної мережі» метаболічних процесів, порушених при різних захворюваннях.

Сьогодні розроблені й застосовуються у практичній медицині численні тести для виявлення носіїв мутантних генів. Вони особливо ефективні для родин, що вже мають хвору дитину, оскільки є можливість пренатальної діагностики при наступних вагітностях [21]. Інша група тестів спрямована на досимптоматичну діагностику великої кількості хвороб, клінічні прояви яких стають видимими доволі пізно, часто у зрілому віці (нейродегенеративні, онкологічні захворювання). Значного прогресу досягнуто в тестуванні генів детоксикації ксенобіотиків, у тому числі «генних мереж», що контролюють метаболізм лікарських засобів.

Для більш повної уяви про роль спадковості у схильності до мультифакторних хвороб важливо тестувати одночасно кілька основних генів «генної мережі». Такі методи тестування багатокомпонентних «генних мереж» розроблено приблизно для 30 хвороб. Суттєву роль у цьому відіграють мікрочипові технології, які дозволяють одночасно вивчати тисячі поліморфізмів у одній людині або декілька поліморфізмів у тисяч людей. Наразі розроблено методи для диференційної експресії генів [22–24]. Досягнення геноміки сприяли розвитку нових технологій у галузі молекулярної біології, в тому числі і створення технології мікрочипів. Теорія їх створення заснована на гібридизації олігонуклеотидів відомої

послідовності, іммобілізованих на твердій поверхні у точно відповідних місцях, з пробами, міченими різними способами. У цій технології взято до уваги останні досягнення інформатики, хімії напівпровідників, мікроелектронної промисловості, а також інформацію, що накопичилася протягом реалізації проекту "HUP".

ДНК-чип — це мініатюрна пластинка з мікрокомірками. Кожна мікрокомірка містить штучно синтезовані олігонуклеотиди, відповідні фрагментам певних генів, які виступають у ролі матриці. У цих комірках відбувається комплементарна взаємодія матриці та проби. Існують два напрями у створенні ДНК-чипів, які відрізняються способом синтезу та нанесення матричних олігонуклеотидів [25].

Один із напрямів ґрунтується на попередньому синтезі олігонуклеотидів або хімічним шляхом, або за допомогою ПЛР (довжина від 500 до 5000 основ), які потім певним чином наносять на оброблену скляну поверхню за допомогою роботів. Такі типи чипів дістали назву кДНК-мікрочипів (cDNA-microarray). У ПЛР ампліфікуються послідовності кДНК відповідних генів. Цей тип чипів дорогий, оскільки необхідно створювати власну кДНК-бібліотеку або придбати її в наукових центрів [26]. Слід зазначити, що кДНК-мікрочипи непридатні для дослідження поліморфізму, мутаційного аналізу, порівняльного вивчення експресії великої кількості генів, тому що щільність розміщення матричних олігонуклеотидів дуже обмежена (кількість комірок не більше 1000 на чип). Крім того, застосування довгих фрагментів кДНК знижує специфічність гібридизації з досліджуваною пробой та призводить до появи хибнопозитивних результатів, які не відповідають реальній експресії генів [27]. Незважаючи на зазначені недоліки, основна перевага полягає у можливості варіювання якісним і кількісним складом фрагментів генів.

Більш перспективний напрям у створенні чипів — використання фотолітографічних технологій, які дають можливість одночасно інтегрувати велику кількість олігонуклеотидів будь-якої послідовності

безпосередньо на поверхні чипа. Щільність розміщення таким чином синтезованих олігонуклеотидів може досягти 1 млн на 1 см². Матриця ДНК-чипа — коротка олігонуклеотидна послідовність, в якій кожному гену відповідають 15–20 нуклеотидів, що значно підвищує точність і відтворення результатів досліджень.

За допомогою ДНК-чипів можна одночасно оцінювати експресію практично необмеженої кількості генів, досліджувати поліморфізм, у тому числі й однонуклеотидних замін (SNP). У цьому разі синтезуються специфічні для кожної послідовності конкретного гена олігонуклеотиди з урахуванням можливих варіантів взаємного розташування нуклеотидів [28].

При проведенні досліджень чип гібридується з пробой, яку мітять різними способами. У порівняльних дослідженнях пробой, як правило, слугує кДНК, отримана з контрольного і порівняльного зразків. Як мітку використовують і радіоактивно мічені молекули, і флуоресцентні барвники, приєднані безпосередньо до досліджуваних зразків. У разі проведення порівняльного аналізу звичайно застосовують двокольорову детекцію, коли контрольна та досліджувана кДНК мітяться різними барвниками. Результати реєструють за інтенсивністю гібридизаційних сигналів тих комірок чипа, в яких відбулася гібридизація, з подальшою комп'ютерною обробкою результатів (рис. 4.4) [29].

Виробляються й більш спрощені варіанти чипів із невеликим набором генів (1000–2000). На нейлоновій мембрані фіксуються короткі послідовності відомих генів. Вони гібридизуються з радіоактивно міченою пробой. Гібридизація детектується методом радіоавтографії.

Слід зазначити, що робота з чипами для виконання гібридизації потребує спеціального дорогого обладнання. Сподіваються, що в найближчі роки ціни на обладнання для виробництва чипів і роботи з ними будуть знижені у зв'язку з насиченням ринку.

Розробка та використання в науці та практиці нових технологій, як правило, є рушійним моментом у розвитку медико-біологічних досліджень, як це було, на-

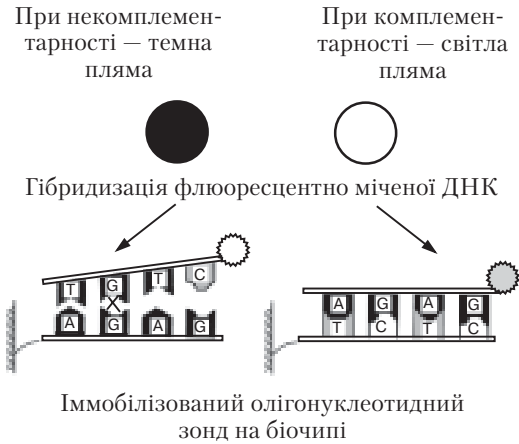


Рис. 4.4. Схема утворення подвійного ланцюга ДНК на біочипі [20]

приклад, з розробкою технологій ПЛР. Наразі розвиток молекулярної біології багато в чому завдячує втіленню в дослідження ПЛР, а згодом і мікрочипів.

Дослідженнями останнього десятиріччя встановлено, що більшість хвороб характеризується певним профілем експресії генів. Порівняння таких профілів у нормі та при патології дозволяє виявити гени, які залучаються в етіологію і патогенез тієї чи іншої хвороби. Наприклад, в одному з досліджень використали чип, який містив близько 100 генів. Передбачалося, що всі вони беруть участь у розвитку запалення. При порівнянні кДНК з тканин хворих на ревматоїдний артрит і коліт було продемонстровано якісну схожість профілів експресії більшості генів, у тому числі інтерлейкіну-3, хемокіну Grod та ін. Це підтвердило єдиний принцип розвитку запалення при здавалося б різних захворюваннях. Одночасно було виявлено гени, які специфічно експресувалися лише при ревматоїдному артриті (тканинний інгібітор металопротеази І-феритин, Mn-супероксиддисмутаза), що можуть бути мішенями для лікарських засобів.

Аналіз виділених із різних пухлин іРНК за допомогою мікрочипів дозволив встановити близько 5 тис. генів, які диференційно експресуються при різних формах раку. Для клітин раку молочної залози

була виявлена підвищена активність 280 генів. Передбачається, що пошук лікарських засобів, спрямованих саме на ці гени, може бути найбільш перспективним для лікування раку молочної залози.

Біочипи застосовуються для діагностики багатьох захворювань людини, які зумовлені, зокрема, поліморфізмом. Передбачається, що в недалекому майбутньому більшість тестів, які виконуються у клінічній лабораторії, будуть ґрунтуватися на ДНК-мікрочипах. Наприклад, якщо ще декілька років тому для HLA-типуювання застосовували набори сироваток для виявлення HLA-антигенів, то сьогодні HLA-генотипування виконується на основі алель-специфічної ПЛР у пробірках, а завтра проводитиметься з допомогою біочипової технології. У Фінляндії вже створено біочипи для визначення розбіжностей в послідовності нуклеотидів у генах, які відповідають за найбільш розповсюджені в цій країні спадкові захворювання. Вартість такого аналізу, який ґрунтується на мікросеквенуванні, наближається до 50 центів США. Вже створені й виходять на ринок мікрофлюїдні чипи — «лабораторія у чипі», що вміщується на долоні. Вона містить в собі комплекс традиційних приладів, які звичайно займають цілу кімнату [29].

Біочипи починають використовувати для виявлення токсигенних штамів бактерій, визначення антибіотикорезистентності мікроорганізмів. Їх застосовують у трансфузіології, онкології, судово-медичній практиці. Біочипи — одна з головних технологій протеоміки.

Перспективним напрямом наукових досліджень, який виник під впливом програми «HUP» і має значення для молекулярної епідеміології, є програма «Human Connectivity Map». Вона дозволяє виявити взаємозв'язки між різними захворюваннями та потенційними методами їх лікування за допомогою універсальної мови, в основі якої знаходяться специфічні для кожної хвороби профілі активності генів («генні візитні картки»). Ці карти заповнюються за допомогою мікрочипів, які надають інформацію про одночасну актив-

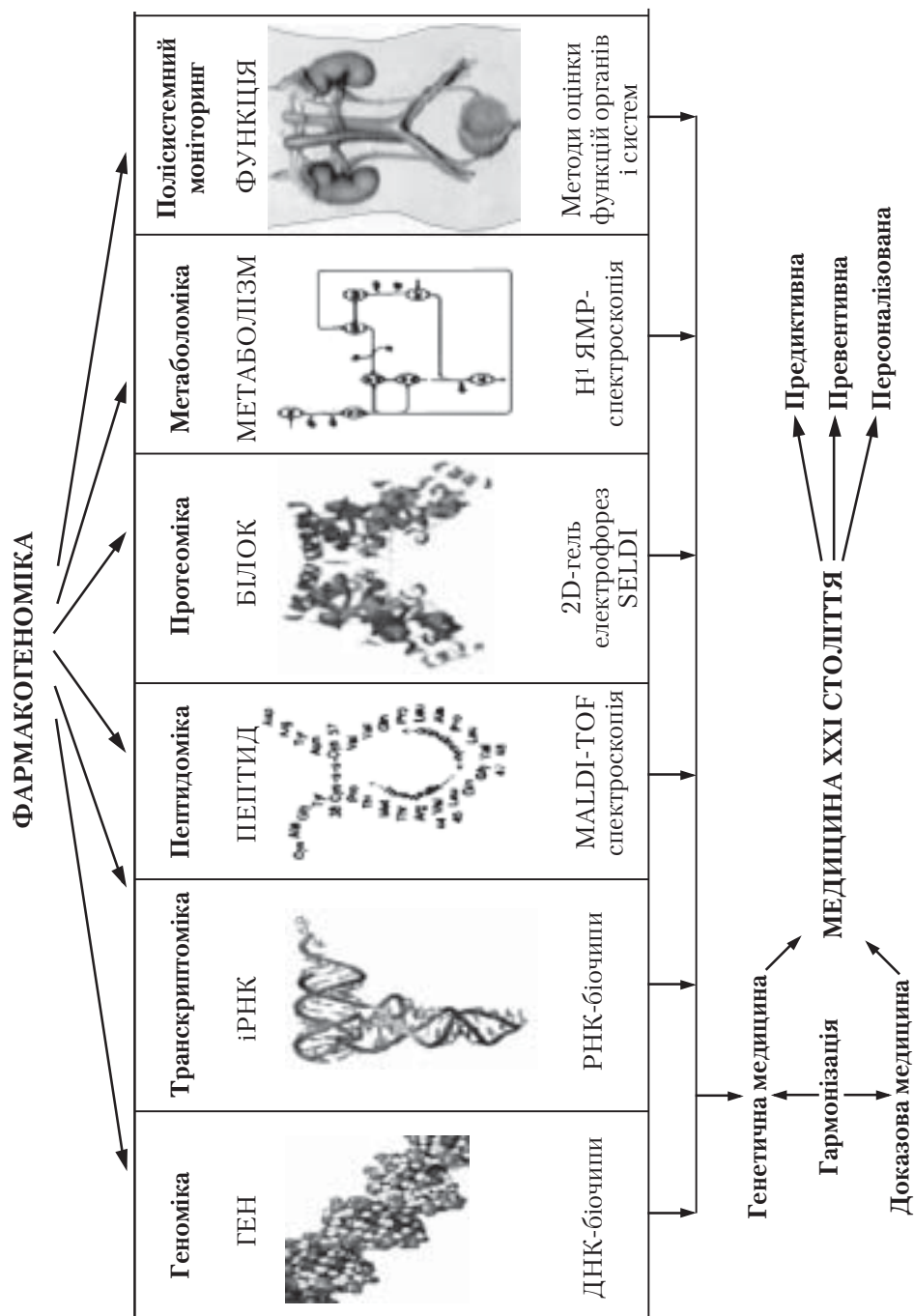


Рис. 4.5. Еволюція багатовимірної біології

ність десятків тисяч генів клітини. Потім програма порівнює активність уражених і здорових клітин або тих і тих клітин до і після лікування. Індивідуальність генного профілю визначається активністю ста чи більше генів. Ця програма дозволила зафіксувати профіль генної активності клітин при різних типах раку, хворобі Альцгеймера, ожирінні та багатьох інших хворобах і порівняти його із профілем клітин із патологічними змінами після лікування як новими, так і відомими лікарськими засобами. Що більша схожість профілів активності генів у клітинах, які порівнювалися, то більша імовірність, що обидві хвороби можна лікувати однотипними ліками. Наприклад, вчені ідентифікували цитостатик рапаміцин як засіб, який знімає резистентність деяких типів дитячої гострої лімфобластної лейкемії до глюкокортикоїдів, що використовуються в традиційній терапії.

Творці “Human Connectivity Map” вважають, що подальше її удосконалення до-

зволить знайти чимало взаємозв’язків між генною експресією і захворюваннями, а також розробити більш досконалі нові ефективні засоби лікування.

Швидкий розвиток біочипової технології визначається такими перевагами: мультиплексність, мініатюрність, специфічність, велика швидкість виконання досліджень й економічність. Вищезазначені, а також інші сучасні молекулярно-біологічні технології, які починають втілюватися у вивчення експресії генів та їх поліморфних варіантів, очевидно, будуть одним з основних чинників, що визначають прогрес молекулярної епідеміології.

Геноміка як наука започаткувала низку «омік» (геноміка-транскриптоміка-протеоміка-метаболоміка), які разом формують багатовимірну біологію (high dimensional biology), яка ґрунтується на позиціях редукціонізму, тобто біологію, що прямує до синтетичного, інтегрального узагальнення відносно процесів життєдіяльності організмів (рис. 4.5, 4.6).

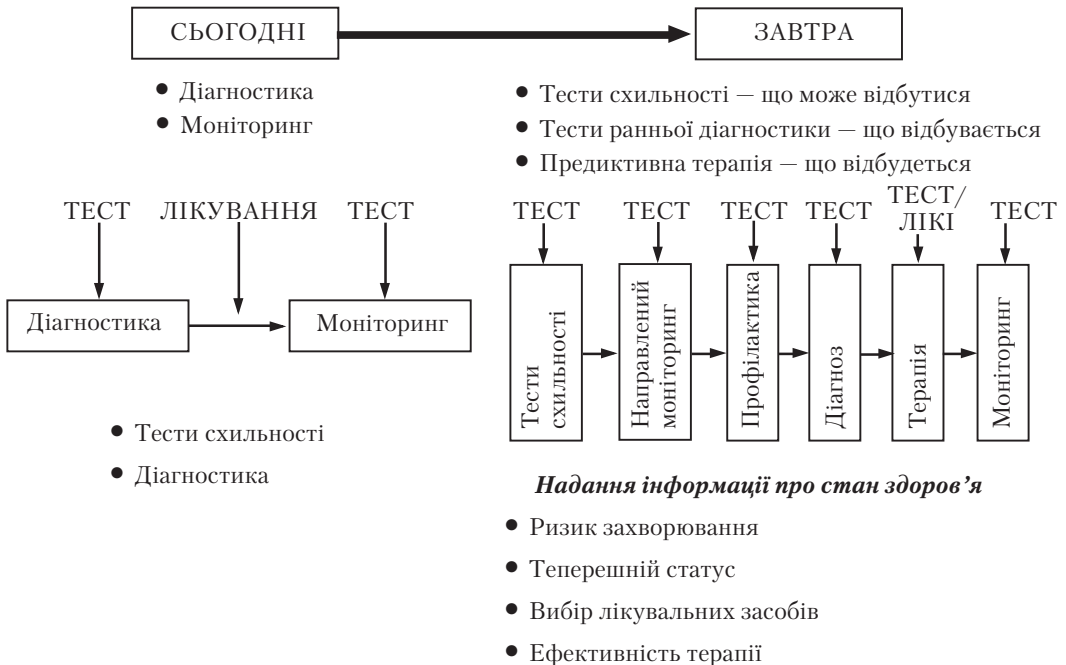


Рис. 4.6. Практичне значення генетичної медицини

Вчені сподіваються, що однією з практичних складових багатовимірної біології стане реалізація ідеї генетичного паспорту. Практичне застосування генетичного паспорту є складною проблемою, що наражається на такі перешкоди:

— величезні фінансові витрати, необхідні для розвитку генетичної медицини;

— виникнення серйозних суперечностей між страховими компаніями та їхніми клієнтами;

— етичні проблеми, оскільки не всі люди бажають знати про свою чутливість до тієї чи іншої хвороби.

Незважаючи на зазначені труднощі, застосування «генетичного паспорту» має одну важливу перевагу. Якщо наразі в лікуванні беруть участь лікар, хворий та його хвороба, то в майбутньому, завдяки «генетичному паспорту», з'явиться ще й четвертий фігурант — комп'ютерна модель хворого, що дозволить значно підвищити як діагностику та лікування, так і прогноз перебігу хвороби. Тоді можна говорити про медицину XXI сторіччя як медицину: предиктивну, превентивну, персоналізовану.

Список літератури

1. *Naciff J. M.* Toxicogenomic approach to endocrine disrupters: identification of a transcript profile characteristic of chemicals with estrogenic activity / J. M. Naciff, G. P. Daston // *Toxicol. Pathol.* — 2004. — Vol. 32, Suppl. 2. — P. 59-70.

2. *The application of genomic and proteomic technologies in predictive, preventive and personalized medicine* / C. D. Collins, S. Purohit, R. H. Podolsky [et al.] // *Vascul. Pharmacol.* — 2006. — Vol. 45, N 5. — P. 258-267.

3. *Tsiridis E.* Transcriptomics and proteomics: advancing the understanding of genetic basis of fracture healing / E. Tsiridis, P. V. Giannoudis // *Injury.* — 2006. — Vol. 37, Suppl. 1. — P. 13-19.

4. *Genetics, transcriptomics and proteomics of Alzheimer disease* / A. Parassotiropoulos, M. Fountoulakis, T. Dunckley [et al.] // *J. Clin. Psychiatry.* — 2006. — Vol. 67, N 4. — P. 652-670.

5. *Бажора Ю. И.* Фармакогенетика: достижения и перспективы / Ю. И. Бажора. — Одесса : Друк, 2003. — 140 с.

6. *Beggs J. D.* Crosstalk between RNA metabolic pathways: an RNOMICS approach. / J. D. Beggs, D. Tollervey // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* — 2005. — Vol. 6, N 5. — P. 423-439.

7. *Фармакогеномика и современные тенденции в лечении немелкоклеточного рака легкого* [Электронный ресурс] / Р. Россел, А. О'Брейт, М. Монзо [и др.]. — Режим доступа : <http://www.pereplet.ru>

8. *Епігенетичні механізми регуляції генів* / В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, М. М. Чеснокова, Н. А. Левицька // *Інтегративна антропологія.* — 2009. — Т. 14, № 2. — С. 4-11.

9. *Genetics, transcriptomics, and proteomics of Alzheimer's disease* / A. Papasotiropoulos, M. Fountoulakis, T. Dunckley [et al.] // *J. Clin. Psychiatry.* — 2006. — Vol. 67, N 4. — P. 652-670.

10. *Carter D.* Cellular transcriptomics — the next phase of endocrine expression profiling / D. Carter // *Trends. Endocrinol. Metab.* — 2006. — Vol. 17, N 5. — P. 192-198.

11. *Геном человека и гены «предрасположенности».* Введение в предиктивную медицину / В. С. Баранов, Е. В. Баранова, Т. Э. Иващенко, М. В. Асеев. — СПб., 2000. — 361 с.

12. *Smith J. D.* Identification of atherosclerosis-modifying genes: pathogenic insights and therapeutic potential / J. D. Smith, E. J. Topol // *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* — 2006. — Vol. 4, N 5. — P. 703-709.

13. *Fountoulakis M.* Proteomics-driven progress in neurodegeneration research / M. Fountoulakis, S. Kossida // *Electrophoresis.* — 2006. — Vol. 27, N 8. — P. 1556-1573.

14. *Genomics and proteomics: Emerging technologies in clinical cancer research* / C. H. Chung, S. Levy, P. Chaurand [et al.] // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* — 2007. — Vol. 61, N 1. — P. 1-25.

15. *He Y. D.* Genomic approach to biomarker identification and its recent applications / Y. D. He // *Cancer. Biomark.* — 2006. — Vol. 2, N 3-4. — P. 103-133.

16. *Lykke-Andersen S.* Origins and activities of the eukaryotic exosome / S. Lykke-Andersen, D. E. Brodersen, T. H. Jensen // *J. Cell. Sci.* — 2009. — Vol. 122, Pt. 10. — P. 1487-1494.
17. *Cummins J. M.* Implications of micro-RNA profiling for cancer diagnosis / J. M. Cummins, V. E. Velculescu // *Oncogene.* — 2006. — Vol. 25, N 46. — P. 6220-6227.
18. *Бажора Ю. И.* Значение расшифровки генома человека для медицины // Юбилейный сборник трудов, посвященный столетию Одесской городской больницы № 11. — Одесса, 2002. — С. 43-45.
19. *Свердлов Е. Д.* Биологический редукционизм уходит? Что дальше? / Е. Д. Свердлов // *Вестник РАН.* — 2006. — Т. 76, № 8. — С. 707-721.
20. *Генетическая медицина* / В. Н. Запорожан, В. А. Кордюм, Ю. И. Бажора [и др.]. — Одесса, 2008. — 432 с.
21. *Головенко М. Я.* Високопродуктивні технології дослідження та створення лікарських засобів. Фармакогеноміка і інформатика / М. Я. Головенко // *Вісник фармакології та фармації.* — 2002. — № 1. — С. 2-8.
22. *Overview of the HUPO Plasma Proteome Project: Results from the pilot phase with 35 collaborating laboratories and multiple analytical groups, generating a core dataset of 3020 proteins and a publicly-available database* / G. S. Omenn, D. J. States, M. Adamski [et al.] // *Proteomics.* — 2005. — Vol. 5. — P. 3226-3245.
23. *Farr S.* Concise review: gene expression applied to toxicology / S. Farr // *Toxicol. Sci.* — 1999. — Vol. 50. — P. 1-9.
24. *Green C. D.* Open system: panoramic views of expression / C. D. Green // *J. Immunol. Meth.* — 2001. — Vol. 2. — P. 73-79.
25. *Мирзабеков А. Д.* Биочипы в биологии и медицине XXI века / А. Д. Мирзабеков // *Вестник РАН.* — 2003. — Т. 73, № 5. — С. 412-422.
26. *Options available — from start to finish — for obtaining data from DNA microarrays II* / A. J. Holloway, K. R. van Laar, R. W. Tothil, D. L. David // *Natur. Genet.* — 2002. — Vol. 32. — P. 481-489.
27. *Ginsburg G. S.* Personalized medicine: Revolution drug discovery and patient care / G. S. Ginsburg, J. J. McCarthy // *Trends. Biotechnol.* — 2001. — Vol. 19. — P. 491-496.
28. *Jain K. K.* Personalized medicine / K. K. Jain // *Current Drugs.* — 2002. — Vol. 4. — P. 548-558.
29. *Augen J.* The evolving role of information technology in the drug discovery process / J. Augen // *Drug. Discov. Today.* — 2002. — Vol. 7. — P. 315-323.
30. *Вильгельм А. Э.* Интерференция РНК: Биология и перспективы применения в биомедицине и биотехнологии / А. Э. Вильгельм, С. П. Чулаков, В. С. Прасолов // *Молекулярная биология.* — 2006. — Т. 40, № 3. — С. 387-403.

Розділ 5. Методи молекулярної епідеміології

METHODS OF MOLECULAR EPIDEMIOLOGY

This chapter gives a short description of the main methods of investigation which are used in molecular epidemiology. The examples of various methods in particular cases are presented. The advantages and disadvantages of these methods are highlighted.

Жоден із методів молекулярної епідеміології не є абсолютно новим і притаманним лише цій науці. Скоріше йдеться про синтез методів класичної епідеміології, клінічної медицини та молекулярної біології. Такий синтез започаткував низку нових наукових дисциплін. За аналогією з геномікою, наукою, що вивчає функції та взаємодію генів у геномі, з'явилися такі комплексні спеціальності, як протеоміка, транскриптоміка, метаболоміка, нутригеноміка, фармакогеноміка та токсикогеноміка [1]. Перед появою комплексних методів дослідження на молекулярному генетичному рівні для потреб молекулярної епідеміології використовувалися здобутки клінічної біохімії та медичної екології. Досі не втратили свого значення високочутливі біологічні маркери порушень ліпідного обміну при дослідженні епідеміології кардіоваскулярної патології, серологічні маркери найбільш поширених інфекційних захворювань, токсикологічні критерії безпеки довкілля [2–5]. Однак сучасний розвиток медичних технологій та нагальна потреба у складних комплексних підходах при визначенні епідеміологічних закономірностей поширення соціально значущої патології потребує широкого впровадження передових методів досліджень, у тому числі повногеномних і протеомічних. При цьому, на відміну від традиційних біомаркерів, використання комплексного підходу до аналізу взаємовідношень компонентів геному, протеому, транскриптому тощо дозволяє вирішувати більш складні питання епіде-

міології тієї чи іншої патології [6] (табл. 5.1).

Провідним стає мультидисциплінарний підхід, коли над розв'язанням актуальних проблем епідеміології та/чи клінічного прогнозування одночасно працюють фахівці з молекулярної біології, клініцисти, епідеміологи, фахівці з біостатистики, токсикологи, гігієністи. Незалежно від того, чи використовуються у молекулярно-епідеміологічних дослідженнях традиційні підходи чи новітні геномічні, протеомічні, метаболомічні чи транскриптомічні технології, перед широким впровадженням біомаркерів у практику завжди проводиться їх валідація з використанням лабораторних, епідеміологічних і клінічних досліджень.

5.1. Організація молекулярно-епідеміологічних досліджень

У молекулярній епідеміології застосовуються деякі види випробувань, які є нехарактерними для інших видів епідеміологічних досліджень [7; 8]. Так, у практиці клінічної епідеміології дизайн «серія випадків» є непопулярним у зв'язку з низьким рівнем доказовості та поганою відтворюваністю результатів. Однак для молекулярно-епідеміологічних досліджень є типовим використання подібного дизайну для визначень взаємодій «ген-ген» і «ген-довкілля» з метою оцінки внеску окремих генетичних варіантів у комплексному гено-

Таблиця 5.1

Порівняння традиційних біомаркерів з сучасними комплексними біомаркерами [6]

Тип біомаркера	Традиційні біомаркери	Комплексні «омічні» біомаркери
Дози	Концентрація в крові хімічного агента	Зміни в експресії гена як ознака впливу, що відбувся
Чутливості	Варіанти ДНК в одному чи декількох локусах	Геномічний профіль варіацій у декількох генах
Ефекту	Стан рецепторів до естрогену при раку молочної залози	Профіль експресії генів для прогнозу перебігу раку молочної залози

типі, для визначення рівня гетерогенності наслідків. Для аналізу результатів досліджень дизайну «серія випадків» використовуються звичайні чотирипільні (2r2) таблиці [7]. При цьому розраховуються співвідношення шансів настання тієї чи іншої події залежно від інтенсивності впливу екологічного фактора (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Оцінка інтенсивного впливу екологічного фактора

Фактор ризику (експозиція/генотип)	Випадки	
	Фенотип 1	Фенотип 2
Так	A	B
Ні	C	D

Відповідно до розрахованих відношень шансів визначаються ризики та формується лікувально-профілактична стратегія. Найбільш цінний такий підхід щодо визначення етіологічних факторів у екологігігієнічних дослідженнях [9]. Водночас експозиція (вплив) фактора і генотип є певною мірою незалежними один від одного. Однак сьогодні відомі гени, деякі алельні варіанти яких можуть бути пов'язані із високим ризиком розвитку патології під впливом несприятливих чинників довкілля. Наприклад, від генетичних варіацій, що визначають активність алкоголь- й альдегіддегідрогеназ, залежать особливості метаболізму алкоголю та, зрештою, ризик виникнення алкоголізму й алкогольної хвороби печінки [10; 11]. Особи з уповільненим метаболізмом алкоголю, яких багато

серед етнічних меншин угро-фінського походження, мають більш високий ризик розвитку адикції до алкоголю. Це підтверджується і тим, що між частотою вживання алкоголю та поліморфізмом гена алкогольдегідрогенази існує негативний кореляційний зв'язок [10].

Використання досліджень дизайну «серія випадків» дозволяє також виявити генотипи з множинними генними варіаціями у різних локусах, оцінити діагностичну, етіологічну та прогностичну гетерогенність. Кореляційні співвідношення між генотипом і фенотипом можуть досліджуватися як за частотою маніфестованих форм хвороби, так і за допомогою біомаркерів із використанням оцінки генотипу, експресії окремих генів, експресії білкових субстанцій та ін. Так, кілька років тому було доведено (Lesage et al., 2002), що мутації гена *CARD15*, які асоціюються з хворобою Крона, корелюють з ураженнями клубової, а не ободової кишки [12]. Le Marchand et al. (2003) визначили, що рак товстої кишки тісно пов'язаний з наявністю алеля 870A гена *CCND1*, який обумовлює активність неопластичного процесу та погіршує прогноз для виживання [13].

Одним із найбільш специфічних досліджень, які здебільшого використовуються тільки у практиці молекулярно-епідеміологічних досліджень, є дизайн «випадок-батьки» [14]. Формування пар або тріад, в яких один з обстежених є пробандом, а інші — його батьками, дозволяє з'ясувати особливості успадкування патологічно обтяжених алелів. Методологічні складності пов'язані з необхідністю використання при

аналізі даних, одержаних під час таких досліджень, складних регресійних моделей, які дозволяють врахувати можливі дефекти визначення генотипу та/або гетерозиготність у батьків.

Втім, до застосування для епідеміологічних досліджень безпосередньо молекулярно-біологічних технологій, у тому числі генетичних, надзвичайно важливо коректно провести збір даних, зокрема патологічного матеріалу та тестованих біологічних тканин.

Загалом, епідеміологічні експерименти, спрямовані на оцінку первинної профілактики (агентів, що повинні запобігти появі захворювання), проводяться значно рідше, ніж клінічні випробування. У клінічному випробовуванні для впливу застосовують не первинну профілактику (оскільки вона не запобігає появі власне захворювання), а засоби вторинної профілактики, які допомагають запобігти ускладненню або рецидиву захворювання [15]. У молекулярній епідеміології можуть використовуватися обидва підходи, втім, зважаючи на перспективи прогнозування виникнення тієї чи іншої нозоформи, перевагу останнім часом віддають польовим, тобто суто епідеміологічним дослідженням.

Особливістю польових досліджень, які мають характер скринінгових, є надзвичайно великі за розмірами вибірки [9]. Це обумовлює високу вартість таких досліджень, що обмежує їх використання. Оскільки учасники дослідження не є пацієнтами, що звертаються у деякий загальний центр для одержання лікування, умовою польових досліджень дуже часто є те, щоб до цільового контингенту медичні працівники приходили безпосередньо на роботу, додому чи в навчальний заклад, що впливає на собівартість досліджень. Виникає необхідність створення центрів, у яких можна виконувати це дослідження і куди звертатимуться учасники дослідження. Це також формує додаткову вартість досліджень.

Польові дослідження, в яких до груп впливу випадковим чином належать не індивідууми, а групи пацієнтів, називаються кластерно-рандомізованими. Що біль-

шими є розміри групи, які є рандомізаційною одиницею стосовно загального розміру дослідження, то меншим є ефект від рандомізації [15].

Широкого визнання набули когортні дослідження, під час яких порівняння проводяться усередині підгруп когорти, обраних за різними факторами впливу [9]. Сутність досліджень типу «випадок-контроль» можна найкраще зрозуміти, якщо ми визначимо вибірку як дзеркало, що відбиває гіпотетичну досліджувану популяцію, в якій могло б бути проведене когортне дослідження. Відповідно до кожного випадку захворювання або іншого явища, що досліджується, у загальній вибірці обирається пара, яка є абсолютно ідентичною за анамнестичними, соціально-економічними й психосоціальними характеристиками, а відрізняється лише відсутністю захворювання або іншого досліджуваного явища.

Дослідження, що використовуються у молекулярній епідеміології, можуть бути також класифіковані як проспективні або як ретроспективні. Якщо вдатися до алгорії, то вчений, що проводить проспективне дослідження, намагається за відомими йому ознаками передбачити майбутнє, а той, що проводить ретроспективне, — відновити події минулого [15].

Проспективне дослідження можна визначити як дослідження, в якому аналіз впливу і вимір інших факторів був зроблений **до того**, як виникло захворювання. У ретроспективних дослідженнях ці показники вивчаються **після того**, як захворювання виникло. Наприклад, якщо за результатами генетичного скринінгу проводиться катамнестичний контроль протягом декількох років, внаслідок чого визначається реальна реалізація ризику виникнення захворювання, йдеться про проспективне дослідження. І навпаки, якщо у пацієнта беруть патологічний матеріал або для дослідження беруть здорові тканини, одержані під час санаційних або косметичних процедур (жирова тканина після ліпосакції, інтактні яєчники у жінок зі злоякісними новоутвореннями молочної залози), йдеться про ретроспективне дослідження [15; 16].

Розходження між класифікаціями досліджень на когортні чи за типом «випадок-контроль», проспективними і ретроспективними, має бути досить чітким, оскільки ці дві осі класифікацій епідеміологічних досліджень часто плутають. Раніше автори називали когортні дослідження проспективними, а дослідження типу «випадок-контроль» — ретроспективними, оскільки когортні дослідження звичайно починаються з ідентифікації впливу, а потім оцінюють розвиток захворювання, тимчасом як дослідження типу «випадок-контроль» звичайно починається з ідентифікації захворюлих людей і контролю, а потім виміру статусу впливу. Однак терміни проспективне і ретроспективне дослідження корисні, насамперед, для того, щоб описати час початку захворювання стосовно виміру впливу [16]. Наприклад, дослідження типу «випадок-контроль» може бути або проспективним, або ретроспективним. При цьому проспективне дослідження типу «випадок-контроль» використовує показники впливу, узяті до того, як людина захворіла, а ретроспективні дослідження, виконані за дизайном «випадок-контроль», використовують показники, взяті після того, як людина захворіла. Як когортні, так і дослідження типу «випадок-контроль» можуть базуватися на поєднанні проспективних і ретроспективних вимірів, використовуючи дані, зібрані як до, так і після початку захворювання (змішаний дизайн).

Розходження між проспективними і ретроспективними дослідженнями іноді використовуються для того, щоб описати час ідентифікації суб'єктів, а не виміру впливу й інших факторів. Коли ми використовуємо даний підхід, ретроспективне чи історичне когортне дослідження включає ідентифікацію та спостереження за пацієнтами, але пацієнти ідентифікуються тільки після того, як період спостереження закінчився. Ідентифікація пацієнтів, вплив на них і результати базуються на існуючих записих чи на спогадах учасників.

Дослідження, яке включає як об'єкти всіх людей у популяції у деякий момент чи репрезентативну вибірку всіх подібних осіб, включаючи тих, хто захворів, і має на

меті описати популяцію в даний момент, звичайно позначається як одномоментне (чи кроссекційне, тобто поперечне) дослідження. Одномоментне дослідження, яке виконується для того, щоб визначити поширеність, називається дослідженням поширеності. Дослідження методом поперечного зрізу (cross-section) використовують з метою вивчення зв'язку між фактором впливу або демографічною характеристикою та певним біомаркером [16]. Стандартною організацією таких досліджень є порівняння однакових за розміром групи осіб, які зазнали впливу фактора, з такою самою за розміром групою тієї ж популяції без дії фактора впливу. Біомаркери можуть визначатись декілька разів протягом дослідження у певних «контрольних точках» часу або група вивчається до початку дії фактора і після певного періоду. Подібна організація досліджень дозволяє оцінити вплив таких факторів, як спосіб життя, особливості діти, репродуктивний статус, професія тощо. Соціально-демографічну інформацію стосовно досліджуваних груп дістають за допомогою спеціально складених опитувальників [17]. Так, проведене в Одеському регіоні методом поперечного зрізу дослідження з метою виявлення факторів ризику медикаментозно резистентного туберкульозу передбачало заповнення хворими опитувальників, що містили питання стосовно віку, статі, перебування у місцях позбавлення волі, ВІЛ-інфікованості, вживання алкоголю, анамнезу лікування [18]. Звичайно інформація про вплив аналізується разом з інформацією про захворювання таким чином, щоб субпопуляції з різним впливом могли бути порівняні у відповідності з поширеністю в них захворювань.

У молекулярній епідеміології майже не використовуються екологічні дослідження, в яких одиницею спостереження є група людей, а не один індивідум [16]. Це пов'язано зі специфікою методів дослідження і неможливістю усереднення індивідуальних генетичних ризиків. У літературі дискутується пропозиція розглядати попередні дослідження з обмеженою достовірністю як тест на наявність взаємозв'язку

між впливом і захворюванням. Якщо подібний взаємозв'язок виявляється, то можна використовувати більш точний і більш дорогий тест з більш складним дизайном дослідження.

Недоліком існуючої методології комплексної оцінки впливу чинників довкілля на стан здоров'я є нехтування особливостями соціально-економічного розвитку та регіональних антрополого-екологічних характеристик [19; 20]. З другого боку, існуючі методи оцінки здоров'я населення, яке знаходиться під впливом відповідних еколого-гігієнічних умов проживання, не повною мірою віддзеркалюють реальні умови формування індивідуального та популяційного здоров'я.

Найбільш перспективним напрямком у розв'язанні цих проблем, на думку відомих вітчизняних і зарубіжних вчених, є впровадження системи соціально-гігієнічного моніторингу на основі оцінки ризиків [20]. Саме розробка показників інтегральної оцінки соціально-економічних, еколого-гігієнічних факторів і стану здоров'я дозволить відкрити шлях до впровадження соціально-гігієнічного моніторингу, значно підвищити якість діяльності санітарно-епідеміологічної служби.

Широке впровадження математико-статистичних методів сприяло до розвитку нового підходу до оцінки взаємозалежностей факторів зовнішнього середовища і здоров'я людини на підставі розрахунку ризиків. Сьогодні напрацьовано значний обсяг матеріалів, присвячених розрахунку канцерогенного і неканцерогенного ризику від впливу атмосферних забруднень, радіаційного фактора, питних вод різного сольового складу [20; 21].

На жаль, в Україні концепцією ризику в оцінці впливу чинників довкілля практично не користуються. Дослідження в основному обмежуються констатацією факту погіршення стану здоров'я, тобто ідентифікацією загрози, яка виникає під впливом дії різних чинників довкілля [21].

В останні роки в Україні впроваджуються засади соціально-гігієнічного моніторингу — складної багатофункціональної системи тривалого спостереження за зміна-

ми показників стану навколишнього середовища, що має за мету виявлення критичних відхилень, які потребують еколого-гігієнічних, соціальних і медико-профілактичних заходів [22].

У світовій практиці критеріями оцінки негативного впливу факторів навколишнього середовища є інтегральні показники здоров'я з встановленням причинно-наслідкових зв'язків між їх впливом та реакцією організму. Одним з таких інтегральних показників є репродуктивне здоров'я населення, в першу чергу — жіночого, що доведено у численних дослідженнях гігієністів та акушерів-гінекологів [23–27]. Втім, в українських реаліях використанню показників репродуктивного здоров'я у практиці соціально-гігієнічного моніторингу приділяється недостатньо уваги, а методологічні підходи молекулярної епідеміології практично не використовуються.

5.2. Молекулярно-генетичні та біохімічні біомаркери в молекулярній епідеміології

У методології молекулярної епідеміології надзвичайно велику роль відіграє дослідження одонуклеотидного поліморфізму, а також поліморфізму мікро- та мінісателітів. Відповідно до прийнятого визначення (Brookes, 1999), SNPs (single nucleotide polymorphisms) — це одонуклеотидні позиції в геномній ДНК, для яких у деякій популяції існують різні варіанти послідовностей (алелей), причому рідкісний алель трапляється з частотою не менше 1 % (рис. 5.1) [28]. Іноді додатково визначаються «розповсюджені SNPs», для яких частота зустрічальності рідкого алеля більше 20 % [29]. Однак досить часто, усупереч формальному визначенню, усі невеликі зміни геномних послідовностей, виявлені в ході SNP-скринінгу, розміщуються в тих самих базах даних. В одному списку з SNPs виявляються невеликі інсерції/делеції (indels) і зміни декількох нуклеотидів.

Історично розвиток цього методу пов'язаний із дрібними відмінностями, на які раніше не звертали уваги. Вони дістали на-

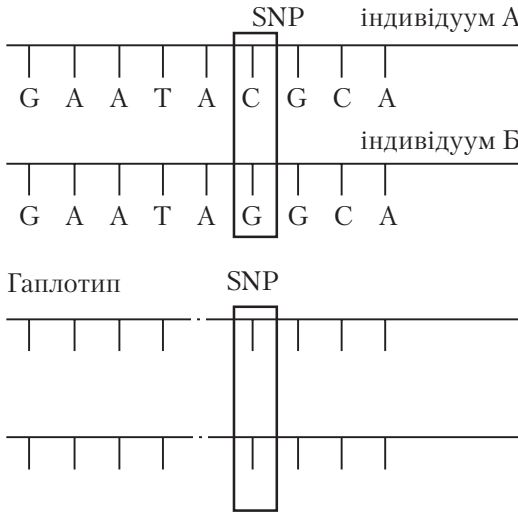


Рис. 5.1. Схема мономуклеотидного поліморфізму

зву «сингулярний (одиничний) нуклеотидний поліморфізм (SNP, СНП, «сніпи»). Якщо спростити сутність цього явища до навколелітературної алузії, то це відмінності за однією літерою генетичного триплетного коду.

Середня кількість «сніпів» у геномі становить близько 1 на 1000 нуклеотидів. Їх зараз інтенсивно досліджують, тому що одонуклеотидний поліморфізм є одним з найбільш важливих механізмів детермінації мультифакторних захворювань [30].

У принципі, можливе існування дво (бі)-, три- і чотириалельних поліморфізмів. Однак на практиці є надзвичайно рідкісними навіть триалельні SNP — менше 0,1 % усіх SNP людини [29]. Біалельні SNP можуть бути чотирьох різних типів: один вид транзицій $C \rightleftharpoons T$ ($G \rightleftharpoons A$) і три типи трансверсій: $C \rightleftharpoons A$ ($G \rightleftharpoons T$), $C \rightleftharpoons G$ ($G \rightleftharpoons C$) і $T \rightleftharpoons A$ ($A \rightleftharpoons T$). Транзиції становлять дві третини усіх SNP людини. Можливо, це пов'язано з походженням $C \rightleftharpoons T$ ($G \rightleftharpoons A$) заміну у реакції дезамінування 5-метилцитозину.

Практичний інтерес до SNPs вельми зріс у ході реалізації проєктів з молекулярної епідеміології різних захворювань [31]. У самому визначенні SNPs закладена ориє-

нтація на їхнє використання як генетичних маркерів (обмеження за частотою зустрічальності протиставляє їх рідкісним мутаціям). Величезна кількість SNPs у геномі людини (за різними оцінками, 3–10 млн розповсюджених SNP) дозволяє відібрати близько 100 000 SNP маркерів, при середній відстані між маркерами 30 тпн [29]. При цьому на кожний відомий або передбачуваний ген припадає у середньому по два маркери. Ніякий інший тип геномних розходжень не здатний забезпечити таку щільність картування.

Висока щільність маркерів — не самоціль. Маркери, що знаходяться один від одного на середній відстані 30 тпн, необхідні для дослідження природи полігенних захворювань й ознак. Лише при такій щільності з'являється можливість шляхом систематичного скринінгу та порівняння великих вибірок здорових і хворих індивідумів виявляти гени, що беруть участь у прояві полігенних ознак. Надійний метод геномного скринінгу SNP дозволив би розробити стандартний підхід до дослідження молекулярної природи схильності до різних захворювань і визначення індивідуальної чутливості до лікарських засобів.

Застосування SNP генотипування не обмежено фармакогенетикою та медициною. Крім високої щільності, SNPs мають дуже низький рівень мутацій на покоління ($\sim 10^{-8}$), що робить їх зручними маркерами молекулярної еволюції [32; 33]. Докладні генетичні карти й ефективні системи генотипування могли б значно прискорити і дослідження, проведені на модельних організмах.

Вивчення мікросателітної нестабільності є надзвичайно цінним інструментом при популяційних дослідженнях [34]. Відомо, що так звані сімейні випадки онкологічних та інших соматичних захворювань нерідко асоціюються з наявністю нестабільності мікросателітів, що є особливим класом ДНК-маркерів. Це фрагменти ДНК з великою кількістю (до сотні і навіть більше) тандемних ідентичних повторюваних «мотивів», які звичайно називають повторами: короткими послідовностями з кількох

(як звичайно прийнято вважати, від однієї до шести) пар нуклеотидів. Мікросателіти є високополіморфними структурами, з десятками алелей у кожному локусі та високими темпами мутації. Алелі мікросателіта локусу відрізняються один від одного довжиною (числом повторів).

Невеликі розміри мікросателітних локусів дозволяють застосувати метод полімеразної ланцюгової реакції з метою генотипування і забезпечити високу відтворюваність результатів. У людини мікросателітні ділянки розподілені по всьому геному, що дозволяє використовувати їх, як і мононуклеотидні поліморфізми (SNP), для аналізу асоціацій, зчеплення і картування генів як маркери спадкових і мультифакторних захворювань.

Мікросателітна нестабільність, пов'язана з порушенням у системі репарації, є важливим типом генетичних перебудов деяких пухлин [34]. Так, в ендометріюїдній карциномі та її варіантах близько 20–45 % пухлин характеризуються мікросателітною нестабільністю. Нестабільність мікросателітних повторів у геномі може бути використана для діагностичних цілей як самостійні маркери в некодуючих і кодуючих ділянках, так і у випадках асоціацій з альтерацією в інших генах.

Оскільки нестабільність мікросателітів є ранньою і постійною ознакою малигнізації, мутації в них можуть використовуватися в діагностиці пухлинного процесу. У дослідженнях В. Г. Дубініної і співавт. (2007) було показано, що ділянки ДНК, розташовані у геномі людини між мікросателітними послідовностями, можуть відігравати суттєву еволюційну роль, оскільки відбивають певний рівень популяційного поліморфізму (до 43 %) [35]. Суттєві відмінності молекулярно-генетичного рівня між нормою та патологією (до 71,4 %) в однієї людини свідчать про можливу участь ISSR-локусів (ISSR — Inter-simple-sequence-repeats) у пухлиноутворенні або ж про їх зчеплення із впливовими локусами. У роботі українських науковців встановлена гомологія поліморфних фрагментів, отриманих методом ISSR-праймування, із

певними послідовностями у геномі людини і визначена можлива функція ділянок ДНК, що розташовані між мікросателітними повторами і впливають на механізми пухлиноутворення [35].

Останнім часом у практиці молекулярно-епідеміологічних досліджень широко використовують порівняльну геномну гібридизацію — метод молекулярно-цитогенетичного аналізу геномного дисбалансу при діагностиці хромосомних порушень у людини [36]. Порівняльна геномна гібридизація (CGH) — це конкурентна супресійна гібридизація *in situ* двох геномних бібліотек ДНК (однієї — виділеної з тканини, що аналізується, другої — з контрольної нормальної тканини), мічених різними флуорохромами, на метафазних пластинках здорового індивіда. Зміна співвідношення інтенсивностей флуоресцентного світіння, що маркує нормальну та аналізовану ДНК, указує на збільшення чи зменшення кількості копій ДНК у досліджуваному матеріалі.

Для швидкого скринінгу геномних порушень (числові аномалії хромосом, маркерні хромосоми, ампліфікація і делеція послідовностей ДНК) у пробандів із хромосомними аномаліями, у хворих на онкологічні захворювання, для пренатальної діагностики хромосомних синдромів призначена CGH. Метод дозволяє провести повний скринінг геному на предмет числових і незбалансованих структурних перебудов хромосом протягом одного експерименту; CGH не потребує приготування препаратів метафазних хромосом із досліджуваної тканини, а, отже, не залежить від процесу культивування клітин і зв'язаних з ним артефактів і надає інформацію про хромосомний набір *in vivo*. Також CGH не залежить від джерела досліджуваного матеріалу і може бути успішно виконана з малою кількістю тестованої ДНК. Крім того, для аналізу може бути використаний архівний матеріал у вигляді залитих у парафін чи зафіксованих у формаліні зразків тканин.

Не можна уявити сучасний арсенал методів дослідження молекулярної епідеміології без оцінки повногеномної експресії

генів [36–39]. Геном будь-якого організму — складна система, елементи якої (гени) зв'язані між собою мережею взаємодій. Одні гени регулюють активність інших, включають і виключають їх, причому ці гени-регулятори самі, у свою чергу, керуються іншими генами. У цих «генно-регуляторних мережах» дуже багато зворотних зв'язків — як позитивних, так і негативних. Центральну роль у цих складних взаємодіях відіграють гени, що кодують транскрипційні фактори, — білки, здатні розпізнавати певні ділянки ДНК, прикріплюватися до них і активізувати, або, навпаки, перешкоджати транскрипції (роботі) прилеглих генів. Експресію генів вимірюють за допомогою мікрочипів — пластинок з нанесеними на них відрізками ДНК — фрагментами досліджуваних генів. З клітин виділяють РНК і наносять на мікрочип. Що активніше працює ген, то більше синтезується в клітині молекул РНК із характерною для даного гена послідовністю нуклеотидів (вони синтезуються у ході первинного «прочитання» генів — транскрипції). Якщо на чипі є відрізки ДНК із такою ж послідовністю нуклеотидів, молекули РНК «прилипають» до них. За кількістю таких «прилиплених» молекул РНК і судять про рівень активності гена [39].

Нарешті, у практиці молекулярно-біологічних досліджень епідеміології інфекційних хвороб надзвичайно велику роль відіграє *real-time PCR* — сімейство методик кількісного ПЛР-аналізу, які дозволяють визначити вихід продукту реакції після кожного циклу ампліфікації та побудувати за цими даними кінетичну криву ПЛР, внаслідок чого на підставі аналізу цієї кривої визначається відносна концентрація субстрату [40].

Для детекції ПЛР-продукту використовуються флуоресцентні барвники, що забезпечують флуоресценцію, прямо пропорційну кількості ПЛР-продукту — репортерну флуоресценцію. Механізми генерації репортерної флуоресценції розрізняються в залежності від типу *real-time PCR* [40].

Поряд із дослідженням генетичних особливостей індивідууму або популяції у молекулярній епідеміології застосовують-

ся альтернативні підходи, зокрема пошук протеомних маркерів [37]. Термін «протеом» позначає весь білковий комплекс, експресований геномом. Висока значущість кожного з індивідуальних білків для забезпечення тих чи інших функцій і/чи молекулярних структур в організмі не тільки визначає їх залучення у різні фізіологічні та патологічні процеси з потенційними можливостями для використання білків як ефективних діагностичних маркерів, але і для застосування деяких білків як лікарських засобів. Традиційні підходи до вивчення індивідуальних білків — біохімічний і імунохімічний аналізи — ґрунтуються на послідовному вивченні окремих білків. Для досягнення цієї мети білки вивчають (виділяють), використовуючи їх індивідуальні властивості — функціональну активність чи антигенність. Водночас системний підхід орієнтується на рівнобіжне вивчення багатьох індивідуальних білків, сукупність яких утворює певну систему, що характеризує досліджуваний об'єкт у цілому. Протеомні методи використовуються для визначення маркерів захворювань і розробки нових ліків.

Для комплексного вивчення «протеому» застосовують методи і технології (рис. 5.2), спрямовані на одночасний поділ, а також подальшу ідентифікацію й аналіз усіх білків, що синтезуються у клітині чи іншому об'єкті (органі, організмі) [41–43]. До них, зокрема, належать:

1. Ізоелектрофокусування — розділення білків під дією електричного поля чи у середовищі з градієнтом рН, що створюється спеціальними амфотерними речовинами — «амфолітами», здатними проводити електричний струм (висока провідність) і водночас локально викликати і підтримувати рН (висока буферна ємність).

2. Електрофоретичні методи.

3. Ідентифікація мікросеквенування базується на визначенні (розшифровуванні) частини амінокислотної послідовності білка. Розроблені методи мікросеквенування дозволяють працювати з дуже малими кількостями пептидів, аж до нанограмових. Це важливо, тому що визначення навіть короткого фрагмента амінокислотної по-

слідовності часто виявляється вирішальним для ідентифікації цілого білка. Мікросеквенування дозволяє виявляти одиночні амінокислотні заміни в аналізованих білках.

4. Мас-спектрометрія встановлює, які атоми входять до складу молекули, яка структура їхнього розташування й ізотопний склад, а також якою є маса молекули. Істотна відмінність мас-спектрометрії від інших аналітичних фізико-хімічних методів полягає у тому, що оптичні, рентгеновські й інші методи детектують чи випромінювання, чи поглинання енергії молекулами або атомами, а мас-спектрометрія має справу із самими частинками речовини.

5. Капілярний електрофорез — це метод аналізу складних сумішей, що використовує електрокінетичні явища (електроміграцію іонів і інших заряджених частинок і електроосмос) для поділу і визначення компонентів. Ці явища виникають у розчинах при переміщенні їх в електричне поле, переважно високої напруги. Якщо розчин знаходиться у тонкому капілярі, наприклад у кварцовому, то електричне поле, накладене уздовж капіляра, викликає в ньому рух заряджених частинок і пасивний потік рідини, у результаті чого проба розділяється на індивідуальні компоненти. Модифікацією методу є капілярний електрофорез

у чипах. Ідентифікація білків за допомогою мас-спектрометрії може проводитися безпосередньо після поділу.

Сьогодні технічно можливими є ідентифікація та визначення всіх індивідуальних білків організму. Зазвичай, протеомний аналіз проводять у два етапи [41]. Спочатку білки розділяють за допомогою двовимірного електрофорезу з високим розділенням, а потім ідентифікують за допомогою мас-спектрометрії. Для ідентифікації білка не потрібно визначати амінокислотну послідовність.

За допомогою описаних методів у одному біологічному зразку можна проаналізувати до 10 000 білків і виявити зміни їхньої концентрації. Подібно до «генетичного паспорта» фахівці розглядають можливість використання з практичною метою «протеомного паспорта» [43].

Уже створені бази даних за сотнями білків протеому міокарда, рівні яких змінюються при захворюваннях серця і судин. Моніторинг кардіопротеому є набагато інформативнішим, ніж ЕКГ та показники центральної і внутрішньосерцевої гемодинаміки. Успішно реалізовано міжнародний проект «Протеом плазми крові», який дозволив ідентифікувати більше 12 000 білків [44].

Ще один перспективний напрям досліджень на субклітинному й молекулярному рівні пов'язаний із розвитком нової медичної науки — метаболоміки [45]. Основним завданням метаболоміки є побудова профілю концентрації всіх метаболітів організму. Метаболоміка спирається на тонкі методи біохімічних і біофізичних досліджень, такі як спектроскопія, протонний ядерний магнітний резонанс у сполученні з комп'ютерним аналізом зразків.

Метаболомічні методи показали високу ефективність при виявленні спадкових і вроджених порушень метаболізму, викликаних як ендогенними, так і екзогенними причинами; при діагностиці багатьох захворювань, ураженні токсичними речовинами, а також при дослідженні реакцій організму на лікарські засоби, харчові продукти тощо [45].

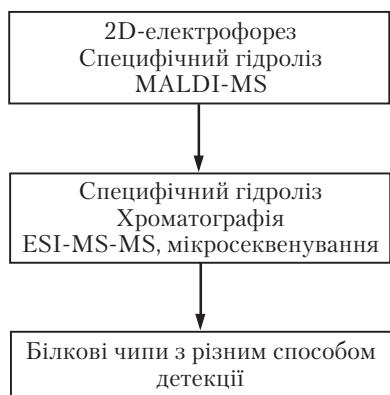


Рис. 5.2. Високотехнологічні методи дослідження білків

5.3. Оцінка валідності молекулярно-епідеміологічних біомаркерів

При застосуванні мультидисциплінарного підходу до евалюації біомаркерів, як правило, оцінці підлягають такі параметри, як аналітична валідність, клінічна валідність і клінічна корисність [9; 16; 46] (табл. 5.3).

З метою аналітичної валідації використовують операційні характеристики, описані у табл. 2.8, зокрема чутливість, специфічність, прогностичність позитивного і негативного результату, відношення правдоподібності позитивного і негативного результату, а також діагностичну точність тесту [16]. Для оцінки ризику (клінічна валідація) використовують відношення шансів, значення відносного й абсолютного ризику, кількість хворих, що потребують лікування, та інші критерії, які є загальноприйнятими у практиці клінічної епідеміології (див. розд. 2). Нарешті, для оцінки клінічної корисності (clinical utility), як правило, використовують відношення ризиків настання несприятливого наслідку для здоров'я (рецидив, ускладнення, смерть) відповідно при використанні нового діагностичного підходу та при традиційному діагностичному алгоритмі. Потреба у визначенні клінічної корисності виникає у тих випадках, коли клінічна валідність діагностичного тесту є доведеною у клінічних дослідженнях і необхідно визначити доцільність впровадження цього тесту в окремому лікувально-профілактичному закладі [16]. Наприклад, визначення фактора Лейдена та протромбіну є

вельми поширеним у практиці епідеміологічних досліджень, проте доцільність впровадження скринінгу на ці фактори залежить від профілю закладу та наявності відповідного лабораторного обладнання [47].

В останні роки у деяких країнах були проведені серйозні популяційні дослідження поширеності деяких генетичних біомаркерів [48–52]. Це дозволило виявити найбільш важливі для різних популяцій медичні проблеми, у тому числі чутливість до неінфекційних та інфекційних захворювань, чутливість до різних медикаментозних засобів, а також визначити пріоритетні напрямки наукового пошуку для подальших досліджень (табл. 5.4). Більшість із цих досліджень мала когортний дизайн, що пов'язано з необхідністю формування великих вибірок та одномоментним обстеженням значних масивів осіб певної етнічної належності.

Сьогодні одним із найбільш важливих методологічних питань молекулярної епідеміології є вибір груп порівняння [16; 42]. Традиційні підходи до формування контрольних груп не завжди дозволяють досягти потрібного результату, тому що існує висока ймовірність одночасного впливу генетичних й еколого-гігієнічних факторів. Прикладом є результати дослідження зв'язку між генетичним маркером Gm 3; 5; 13; 14 та інсулін-незалежним діабетом у індіанців піма [53]. У цьому трансверсальному дослідженні особи, що були носіями маркерного гена, значно частіше хворіли на діабет, ніж інші (29 % проти 8 %). Однак згодом з'ясувалося, що цей маркер більшою мірою свідчить про походження від зміша-

Таблиця 5.3

Мультидисциплінарний підхід до валідації біомаркерів

Тип евалюації	Мета евалюації	Вид досліджень
Аналітична валідність	Оцінка операційних характеристик тесту: чутливості, специфічності, прогностичної цінності	Лабораторні дослідження «Транзиційні» дослідження
Клінічна валідність Клінічна корисність	Оцінка ризику патології/ефекту для осіб з позитивним/негативним тестом за біомаркером, що вивчається	Клінічні дослідження Контрольовані клінічні дослідження

Популяційні дослідження у сучасній молекулярній епідеміології

Дослідження	Розмір вибірки	Країна, популяційна група	Мета дослідження	Методи дослідження
Decode Genetics	Більше 100 000 осіб	Ісландія	Визначити генетичні причини найбільш поширених захворювань і розробити нові ліки і діагностичні інструменти	Визначення генів-кандидатів, наслідків, зв'язку з генеалогічними базами даних
UK Biobank	500 000	Велика Британія, особи у віці 45–69 років	Дослідити роль генів, довкілля та способу життя у детермінації здоров'я	Зв'язок з особистими медичними даними
CartaGene	Більше 60 000 осіб	Канада (Квебек), дорослі у віці 25–74 років	Дослідити генетичні варіації у сучасній популяції	Зв'язок з особистими медичними даними, базами даних спадкових хвороб, базами даних щодо стану об'єктів довкілля
Estonia Genome	Більше 1 млн осіб	Естонія	Знайти гени, які викликають соціально значущі хвороби та впливають на їх перебіг	Зв'язок з особистими медичними даними
Genome EUtwin	Більше 800 000 пар близнят	Сім країн ЄС і Австралія	Охарактеризувати генетичні, середовищні та поведінкові аспекти проблем охорони здоров'я	

них шлюбів білих та індіанців — коли з дослідження були виключені особи змішаного походження, різниця між чистокровними індіанцями піма за частотою виникнення діабету виявилася незалежною від наявності чи відсутності досліджуваного генетичного маркера. Для уникнення подібних ситуацій рекомендують проводити ретельний відбір кандидатів для участі у дослідженні, що також впливає на розмір статистичної похибки. Оптимальним рішенням проблеми є використання одразу кількох маркерів у повногеномних дослідженнях.

Ще однією типовою проблемою аналітичної валідності молекулярно-генетичних біомаркерів є труднощі в інтерпретації експозицій та ефекту [46]. В ідеалі наявність однієї чи кількох мутацій у гені має корелювати з порушенням функції гена, а відтак і з порушеннями експресії певного білка. Втім, багато маркерів мають тісний зв'язок з іншими маркерами у тій самій

ділянці хромосоми. Таким чином, дослідник здебільшого визначає ці асоційовані маркери замість визначення безпосередньо мутацій, які призводять до розвитку захворювань. Це тягне за собою хибне тлумачення результатів і некоректну оцінку ризику виникнення захворювання, що вивчається.

Цікавою методологічною проблемою є визначення зв'язку між чинниками довкілля та генотипом [3]. Для цього зазвичай використовується таблиця дизайну 2x4 (табл. 5.5), в якій зведені результати оцінки різних алельних варіантів.

Як видно з наведеної табл. 5.5, при розрахунку співвідношення шансів як референтну групу використовують осіб, які не мали експозиції до шкідливого фактора і не є носіями патологічно обтяжених алельних варіантів. При формуванні вибірки велике значення має коректне статистичне обґрунтування її мінімальних розмірів. Надмірне

Таблиця 5.5

Аналіз зв'язку генів із чинниками довкілля

Експозиція	Генотип	Випадок	Контроль	Відношення шансів (OR)
–	–	A_{00}	B_{00}	$OR=1,0$
–	+	A_{01}	B_{01}	$OR_{01}=A_{01}B_{00}/(A_{00}B_{01})$
+	–	A_{10}	B_{10}	$OR_{10}=A_{10}B_{00}/(A_{00}B_{10})$
+	+	A_{11}	B_{11}	$OR_{11}=A_{11}B_{00}/(A_{00}B_{11})$

збільшення обсягів вибірки призводить до невинувато великих видатків на проведення дослідження, а результати, одержані на малій вибірці, є недостатньо репрезентативними.

Слід зазначити, що некоректна статистична обробка може звести нанівець результати наукової роботи всієї мультидисциплінарної команди, яка бере участь у молекулярно-епідеміологічних дослідженнях [9]. У зв'язку з цим багато авторів приділяє увагу пошуку найбільш надійних методів, які б дозволили уникнути похибок при тлумаченні одержаних результатів. Наприклад, у дослідженні Wacholder et al. (2004) був використаний баєсівський підхід до оцінки достовірності зв'язку між генетичними варіантами та захворюванням [54]. Цей підхід ґрунтується на відмові від фреквентистського аналізу спостережуваних явищ і передбачає визначення вихідних граничних умов сили асоціації генетичного варіанта та патології. Використання баєсівської статистики дозволяє суттєво зменшити кількість псевдопозитивних результатів і мінімізувати вплив суб'єктивного фактора в інтерпретації одержаних даних. В останні роки фахівці з молекулярної епідеміології також широко застосовують методи кластерного та багатофакторного аналізу при вивченні складних генних мереж [55; 56].

У деяких країнах світу проведена оцінка популяційного й абсолютного ризику виникнення соціально значущих захворювань, створені відповідні карти, які використовуються при складанні профілактичних програм [57]. Утім, на теренах СНД по-

дібних програм досі не існує. Це, насамперед, пов'язано з браком біотехнологічних потужностей і незадовільним фінансуванням відповідних проектів. Проте зволікання із впровадженням сучасних біотехнологій та принципів генетичної медицини може призвести до невинувато великого відставання України від інших держав світу та до поглиблення кризи у галузі прикладної медичної науки.

Список літератури

1. Fox H. S. Advances in the “omics” for diagnosis, pathogenesis, and therapeutic development / H. S. Fox // J. Neuroimmune Pharmacol. — 2010. — Vol. 5, N 1. — P. 1-3.
2. Lipid accumulation product index: a reliable marker of cardiovascular risk in polycystic ovary syndrome / D. Wiltgen, G. Benedetto, L. S. Mastella, P. M. Spritzer // Hum. Reprod. — 2009. — Vol. 24, N 7. — P. 1726-1731.
3. Merrill Ray M. Environmental Epidemiology: Principles and Methods / Ray M. Merrill. — 1 ed. — Jones & Bartlett Pub., 2007. — 483 p.
4. Бердник О. В. Екологічні аспекти оцінки стану здоров'я населення / О. В. Бердник, Л. В. Серих // Довкілля та здоров'я. — 2001. — Т. 17, № 2. — С. 32-34.
5. Назаренко Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун. — М. : Медицина, 2007. — 544 с.
6. Khoury M. J. Invited commentary: from genome-wide association studies to gene-

environment-wide interaction studies—challenges and opportunities / M. J. Khoury, S. Wacholder // *Am. J. Epidemiol.* — 2009. — Vol. 169, N 2. — P. 227-230.

7. *Baker D.* Environmental Epidemiology : Study methods and application / D. Baker, Mark J. Nieuwenhuijsen. — 1 ed. — Oxford University Press, USA, 2008. — 368 p.

8. *Запорожан В. Н.* Молекулярная эпидемиология — связующее звено между фундаментальными исследованиями и практическим здравоохранением (обзор литературы и собственных исследований) / В. Н. Запорожан, Ю. И. Бажора // *Журнал Акад. мед. наук України.* — 2008. — Т. 14, № 2. — С. 344-352.

9. *Антамонов М. Ю.* Математическая обработка и анализ медико-биологических данных / М. Ю. Антамонов. — К., 2006. — 568 с.

10. *ADH* genotypes and alcohol use and dependence in Europeans / J. B. Whitfield, B. N. Nightingale, K. K. Bucholz [et al.] // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 1998. — Vol. 22, N 7. — P. 1463-1469.

11. *Наследственный алкоголизм*: некоторые нейрохимические и генетические механизмы / И. П. Анохина, А. Г. Веретинская, Н. Л. Векшина [и др.] // *Вестник РАМН.* — 1999. — № 6. — С. 43-47.

12. *CARD15/NOD2* mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease / S. Lesage, H. Zouali, J. P. Cézard [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 70, N 4. — P. 845-857.

13. *Le Marchand L.* The predominance of the environment over genes in cancer causation: implications for genetic epidemiology / L. Le Marchand // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* — 2005. — Vol. 14, N 5. — P. 1037-1039.

14. *Carballo F.* Epidemiologia molecolare e consenso informato / F. Carballo, B. Terracini // *Epidemiol. Prev.* — 2002. — Vol. 26, N 4. — P. 211.

15. *Schulte P.* Molecular Epidemiology: Principles and Practices / P. Schulte, F. Perera. — N. Y. : Academic Press, 1998. — 588 p.

16. *Флетчер Р.* Клиническая эпидемиология: основы доказательной медицины / Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер ; пер. с англ. — М. : Медиа Сфера, 1998. — 362 с.

17. *Епідеміологічні методи вивчення неінфекційних захворювань* : навч. посібник / В. М. Лехан, Ю. В. Вороненко, О. П. Максименко [та ін.]. — Дніпропетровськ : АРТ-ПРЕС, 2004. — 184 с.

18. *Differentiation of tuberculosis strains in a population with mainly Beijing-family strains* / V. Nikolayevskyy, K. Gopaul, Y. Balabanova [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* — 2006, Sep. — Vol. 12, N 9. — P. 1406-1413.

19. *Бердник О. В.* Оцінка ризику формування неінфекційної патології під впливом чинників навколишнього середовища / О. В. Бердник, В. Ю. Зайковська, Л. В. Серих // *Моніторинг та прогнозування генетичного ризику в Україні.* — К. : НТУУ «КПІ», 2000. — С. 300-306.

20. Оценка риска как инструмент социально-гигиенического мониторинга / Б. А. Кацнельсон, Л. И. Привалова, С. В. Кузьмин [и др.]. — Екатеринбург, 2001. — 244 с.

21. *Використання оцінки ризику для здоров'я населення в пілотному проєкті американської агенції з охорони довкілля щодо впровадження методології оцінки ризику в Україні* / А. М. Сердюк, О. І. Турос, А. А. Петросян [та ін.] // *Гігієна населених місць* : зб. наук. праць. — К., 2006. — Вип. 48. — С. 39-43.

22. *Социально-гигиенический мониторинг* — практика применения и научное обеспечение. В 2-х ч. / под общ. ред. акад. РАМН, д-ра мед. наук А. И. Потапова. — М., 2000. — 800 с.

23. *Репродуктивное здоровье у девушек-подростков в социально-гигиеническом мониторинге* / Н. И. Латышевская, Г. П. Герусова, С. В. Вдовин [и др.] // *Гигиена и санитария.* — 2001. — № 5. — С. 74-75.

24. *Надворна О. М.* Особливості статевого та фізичного розвитку дівчат-підлітків в екологічно несприятливих районах Півдня України : дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.01.01 / О. М. Надворна. — Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2006. — 141 с.

25. Колоденко В. А. К методике комплексной оценки состояния репродуктивного здоровья / В. А. Колоденко, Л. Г. Засыпка, В. В. Беспоясная // Вісник соц. гігієни та організації охорони здоров'я України. — 2002. — № 2. — С. 23-32.
26. Иванова С. В. Влияние химических веществ, загрязняющих атмосферный воздух городов, на репродуктивное здоровье (обзор) / С. В. Иванова // Гигиена и санитария. — 2004. — № 2. — С. 10-14.
27. Запорожан В. М. Репродуктивне здоров'я дівчат-підлітків, які мешкають в умовах природно-антропогенної аномалії Одеського регіону / В. М. Запорожан, Н. М. Рожковська, О. М. Надворна // Буквинський мед. вісник. — 2004. — № 2. — С. 53-54.
28. Brookes A. J. The essence of SNPs / A. J. Brookes // Gene. — 1999. — Vol. 4, N 2. — P. 177-186.
29. Lai E. Application of SNP technologies in medicine: lessons learned and future challenges / E. Lai // Genome Res. — 2001. — Vol. 11, N 6. — P. 927-929.
30. Бажора Ю. И. Молекулярная эпидемиология: ее значение в современной медицине / Ю. И. Бажора // Интегративна антропология. — 2008. — Т. 11, № 1. — С. 4-10.
31. Запорожан В. М. Молекулярно-генетичні детермінанти виникнення мультифакторіальних захворювань: сучасний стан проблеми і перспективи дослідження / В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, Ю. М. Ворохта // Интегративна антропология. — 2008. — Т. 12, № 2. — С. 4-7.
32. Crow J. F. Spontaneous mutation as a risk factor / J. F. Crow // Exp. Clin. Immunogenet. — 1995. — Vol. 12, N 3. — P. 121-128.
33. Li X. Y. Transcriptional elongation and cancer. Tumorigenesis / X. Y. Li, M. R. Green // Curr. Biol. — 1996. — Vol. 6, N 8. — P. 943-944.
34. Laghi L. Differences and evolution of the methods for the assessment of microsatellite instability / L. Laghi, P. Bianchi, A. Malesci // Oncogene. — 2008. — Vol. 27, N 49. — P. 6313-6321.
35. Минливисть ДНК між мікросателітними повторами у хворих з міомою матки / В. Г. Дубініна, В. П. Доменюк, Т. Г. Вербицька, В. В. Бубнов // Репродуктивное здоровье женщины. — 2006. — Т. 26, № 2. — С. 85-87.
36. Примроуз С. Геномика. Роль в медицине / С. Примроуз, Р. М. Твиман. — БИНОМ, 2008. — 278 с.
37. Мутовин Г. Р. Клиническая генетика. Геномика и протеомика наследственной патологии. — 3-е изд., перераб. и доп. / Г. Р. Мутовин. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 832 с.
38. Richards J. E. The Human Genom. A user's guide / J. E. Richards, S. Hawley. — N. Y. : Academic Press, 2010. — 464 p.
39. He Y. D. Genomic approach to biomarker identification and its recent applications / Y. D. He // Cancer Biomark. — 2006. — Vol. 2, N 3/4. — P. 103-133.
40. Schmittgen T. D. Analyzing real-time PCR data by the comparative C (T) method. / T. D. Schmittgen, K. J. Livak // Nat. Protoc. — 2008. — Vol. 3, N 6. — P. 1101-1108.
41. Reinders J. Proteomics: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology) / J. Reinders, A. Sickmann. — 1 ed. — N. Y. : Humana Press, 2009. — 420 p.
42. Dziuda D. M. Data Mining for Genomics and Proteomics: Analysis of Gene and Protein Expression Data (Wiley Series on Methods and Applications in Data Mining) / D. M. Dziuda. — London : Wiley-Interscience, 2010. — 336 p.
43. Kannicht C. Post-translational Modifications of Proteins: Tools for Functional Proteomics (Methods in Molecular Biology) / C. Kannicht. — 2 ed. — N. Y. : Humana Press, 2008. — 390 p.
44. Musselman I. Human serum and plasma proteomics / I. Musselman, D. Speicher // Curr. Protoc. Protein Sci. — 2005. — Ch. 24. — Unit 24.1.
45. Lindon J. C. The Handbook of Metabonomics and Metabolomics / J. C. Lindon, J. K. Nicholson, E. Holmes. — 1 ed. — N. Y. : Elsevier Science, 2007. — 572 p.

46. *Biomarkers of Disease: An Evidence-Based Approach* / A. K. Trull, L. M. Demers, D. W. Holt [et al.]. — 1 Reprint edition. — Cambridge University Press, 2008. — 520 p.
47. *Cooper P. C.* An overview of methods for detection of factor V Leiden and the prothrombin G20210A mutations / P. C. Cooper, S. M. Rezende // *Int. J. Lab. Hematol.* — 2007. — Vol. 29, N 3. — P. 153-162.
48. *Winickoff D.* The Biobanks Law and Decode Genetics: rhetoric equals cash in Iceland / D. Winickoff // *Genewatch.* — 2000. — Vol. 13, N 5/6. — P. 4-6.
49. *Palmer L. J.* UK Biobank: bank on it / L. J. Palmer // *Lancet.* — 2007. — Vol. 369, N 9578. — P. 1980-1982.
50. *Godard B.* Community engagement in genetic research: results of the first public consultation for the Quebec CARTaGENE project / B. Godard, J. Marshall, C. Laberge // *Community Genet.* — 2007. — Vol. 10, N 3. — P. 147-158.
51. *Das estnische Genomprojekt im Kontext der europäischen Genomforschung* / A. Metspalu, F. Köhler, G. Laschinski [et al.] // *Dtsch Med. Wochenschr.* — 2004. — B. 129, N 1. — S. 25-28.
52. *Analysis of genetic variation in the GenomeUtwinn project* / K. Silander, T. Axelsson, E. Widén [et al.] // *Twin Res.* — 2003. — Vol. 6, N 5. — P. 391-398.
53. *Gm3; 5, 13, 14 and type 2 diabetes mellitus: an association in American Indians with genetic admixture* / W. C. Knowler, R. C. Williams, D. J. Pettitt [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* — 1988. — Vol. 43, N 4. — P. 520-526.
54. *Assessing the probability that a positive report is false: an approach for molecular epidemiology studies* / S. Wacholder, S. Chanock, M. Garcia-Closas [et al.] // *J. Natl. Cancer. Inst.* — 2004. — Vol. 17, N 96 (6). — P. 434-442.
55. *Иванов В. И.* Геномика — медицине / В. И. Иванов. — М. : Академкнига, 2005. — 392 с.
56. *Генетична медицина* / В. М. Запорожан, В. А. Кордюм, Ю. І. Бажора [та ін.] ; за ред. В. М. Запорожана. — Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2008. — 432 с.
57. *Altshuler D.* Genetic mapping in human disease / D. Altshuler, M. J. Daly, E. S. Lander // *Science.* — 2008. — Vol. 322, N 5903. — P. 881-888.

Розділ 6. Молекулярна епідеміологія соціально значущих захворювань

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF SOCIALLY IMPORTANT DISEASES

The chapter is dedicated to the molecular disorders having importance for the risk of the occurrence of such widely spread diseases as cardiovascular diseases, diabetes mellitus, obesity, some diseases of the central nervous system. The role of the changes determined at the molecular level is emphasized in the assessment of epidemiological situation and development of the preventive measures.

Відкриття послідовності геному людини надає нам можливість першого цілісного погляду на нашу генетичну спадщину і є одним з основних ресурсів майбутніх біомедичних досліджень. Відомо, що 46 хромосом людини, серед яких 22 пари autosомних хромосом й 2 статеві хромосоми, складаються приблизно з трьох мільярдів пар основ ДНК і містять близько 30 000 генів, що кодують протеїни. При цьому регіони кодування становлять менш 5 % геному, а деякі хромосоми мають більш високу щільність генів, ніж інші. Що ж стосується функції іншої частини ДНК, то вона дотепер залишається неясною [1]. Із розвитком медичної генетики й генетичної медицини вчені відкривають все більше генів-кандидатів, від алельного стану яких залежать походження і тяжкість перебігу захворювання у конкретного пацієнта.

Одна з найскладніших проблем майбутніх досліджень полягає в тому, щоб зрозуміти, яким чином гени роблять свій внесок у захворювання, що мають комплексний характер спадкування, як у разі ожиріння, цукрового діабету, бронхіальної астми, раку, ментальних розладів, психічних і нейродегенеративних захворювань [1]. Для усіх цих хвороб, при певному специфічному або неспецифічному спадковому обтяженні, не існує єдиного гена, відповідального за розвиток хвороби. Імовірно, необхідна більш ніж одна мутація для маніфестації захворювання. При цьому безліч

генів можуть впливати на схильність людини до хвороби або змінювати її реакцію на зовнішні, у тому числі екологічні фактори, що стає тригерним моментом патології. Розуміння цього ланцюга взаємопов'язаних і взаємозалежних процесів, безсумнівно, є завданням для молекулярної епідеміології на найближчий час, потужною підмогою для якої є можливості технології молекулярних методів дослідження [2].

Інформаційна значущість результатів, отриманих завдяки молекулярно-епідеміологічним дослідженням, полягає у такому:

- оцінка індивідуальних ризиків розвитку мультифакторних захворювань;
- характеристика індивідуальної схильності або резистентності до інфекційних захворювань;
- визначення індивідуальної чутливості до лікарських препаратів;
- планування родини.

На підставі результатів молекулярно-епідеміологічних досліджень можна створити модель індивідуальної медицини та впровадити медичний генетичний паспорт. Слід розуміти, що генотипування — це скринінгова процедура, спрямована на аналіз наслідуваних ознак. Генотипування досить провести один раз, оскільки під час дослідження визначаються генетичні комбінації, успадковані від біологічних батьків на все життя людини.

Мультифакторні захворювання обумовлені комбінованою дією несприятливих

факторів навколишнього середовища й генетичних факторів ризику, які формують спадкову схильність до захворювання [3]. До цієї групи належить переважна більшість хронічних захворювань людини з ураженням серцево-судинної, дихальної, ендокринної та інших систем, а також кілька інфекційних хвороб, чутливість до яких у багатьох випадках також генетично детермінована. Інформація про медично значущі поліморфізми є результатом численних науково-дослідних робіт, кількість яких збільшується з кожним роком (рис. 6.1) [4]. Технологічні й біоінформаційні можливості сучасних медичних лабораторій дозволяють використовувати ці знання з діагностичною метою.

Генетичні дослідження взаємозв'язку «генотип-фенотип» дозволяють оцінювати кореляції між алелями маркера й розходженнями ознак у популяційному масштабі. Наразі широко розповсюджені поліморфні алелі з відносно невеликим ефектом, який порушує функцію гена, що розглядають як генетичні фактори ризику. Ті гени, поліморфні алелі яких беруть участь у формуванні спадкової схильності до певної патології, називають генами схильності, або генами-кандидатами. Для різних мультифакторних захворювань набір генів-кандидатів різний, а їхня кількість може досягати кількох десятків або навіть

сотень [3]. До актуальних напрямів медичного генотипування можна зарахувати такі категорії захворювань: онкологічні, для яких виявлено приблизно 5700 значущих поліморфізмів; нейродегенеративні — 1800; серцево-судинні захворювання — 1700; обмін речовин — 1400 і фармакогеномний аналіз — 900. Пошук таких генів здійснюється з урахуванням знань про основи етіології й патогенезу захворювання, склад білків, що беруть участь у патологічно змінених обмінних процесах, структуру генів, що кодують ці білки, присутність поліморфних алелей, що впливають на роботу основного обміну в цілому, і чи належать вони до генетично детермінованих факторів ризику розвитку певної патології. Для відповіді на це останнє питання порівнюють частоти поліморфних алелей у вибірках хворих і здорових людей. Вважається, що поліморфний алель бере участь у формуванні спадкової схильності до захворювання у тому випадку, якщо його частота у хворих достовірно перевищує контрольний рівень. Наприклад, існує підвищена ймовірність виникнення інфаркту міокарда або розвитку атеросклерозу за наявності поліморфних алелей у генах, що відповідають за оптимальну роботу серцево-судинної системи [5].

6.1. Проблеми молекулярної епідеміології серцево-судинних захворювань

За даними ВООЗ, судинні та серцево-судинні захворювання є причиною, принаймні, однієї третини усіх смертей на земній кулі. Основні типи серцево-судинних захворювань включають цереброваскулярні хвороби, атеросклероз, ішемічну хворобу серця, гіпертонію, тромбози, уроджені вади та ревматичні захворювання серця [3; 5]. Найпоширенішими патологіями серцево-судинної системи є атеросклероз, тромбоз і гіпертонія. Інсульт та ішемічна хвороба серця — найпоширеніші серцево-судинні захворювання, що призводять до смертельного результату.

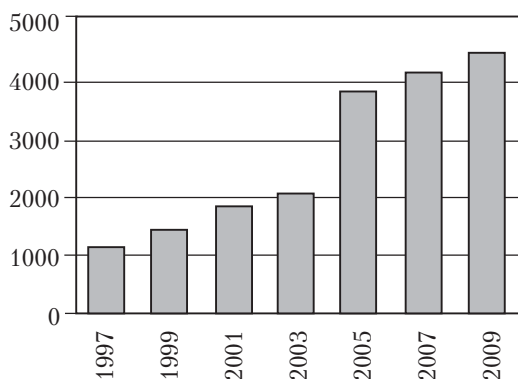


Рис. 6.1. Динаміка кількості наукових публікацій, присвячених вивченню взаємозв'язку генотип-фенотип [4]

Етіологія захворювань серцево-судинної системи є надзвичайно складною, а з точки зору молекулярної епідеміології, — це результат взаємодії між численними факторами навколишнього середовища — кліматом, дієтою, фізичною активністю, мікробіологічними, психологічними, а також генетичними факторами. Згідно з даними ВООЗ, установлено понад 300 факторів ризику, пов'язаних із ішемічною хворобою серця й інсультом, «головні» з яких повинні задовольняти таким критеріям: висока частота зустрічальності в різних популяціях, значущий і незалежний вплив на етіологію або перебіг захворювання. Зміна цих факторів внаслідок лікування або профілактики приводить до зменшення ризику захворювання.

Сьогодні значущими у всіх популяціях є чотири категорії серцево-судинних факторів ризику:

а) основні фактори ризику, що змінюються (або модифікуються), — високий артеріальний тиск, аномальний ліпідний профіль, паління, гіподинамія, ожиріння, нездорова дієта;

б) інші фактори ризику, що змінюються (або модифікуються), — соціоекономічний статус, психічні розлади, емоційне напруження, алкоголь, деякі медикаменти;

в) фактори ризику, що не модифікуються, — вік, національність, спадковість, стать;

г) «нові» фактора ризику — гіпергомоцистеїнемія, запалення, аномальне згортання крові.

До основних незмінних факторів ризику належать генетичні чинники. Існує, однак, низка проблем, без розв'язання яких широкомасштабне використання даних генетичного тестування практично не має сенсу. Результати досліджень генетичних асоціацій досить часто можуть виявитися суперечливими. Асоціації захворювання з певними поліморфізмами завжди будуть залежати від численних додаткових умов [4], оскільки вплив багатьох генетичних факторів проявляється тільки у присутності певних впливів зовнішнього середовища. Наприклад, поліморфізми, що змінюють функціональні властивості генів метаболізму, які раніше називали генами

детоксикації — глутатіонілтрансферази, цитохроми, алкогольдегідрогеназа тощо, істотно впливатимуть на ризик захворювань тільки у присутності певних чинників довкілля, таких як паління, прийом деяких медикаментів, алкоголь. Не слід забувати й про те, що генетичні поліморфізми — це латентні та довічні фактори ризику. Латентність фактора ризику полягає в тому, що при деякій комбінації зовнішніх обставин ризик захворювання за наявності даного варіанта поліморфізму значно підвищується. Наприклад, епідеміологічні дослідження випадків поліморфних варіантів гена *F5* (варіанта Лейден) показали, що присутність варіанта Лейден збільшує ризик тромботичних подій в 2,6 разу, проте якщо пацієнтки, що мають даний нуклеотидний варіант гена *F5*, приймають також пероральні протизаплідні засоби (які сприяють підвищенню згортальної активності крові), то ризик тромбозів зростає майже у 30 разів. Отже, тромбоз судин практично неминучий при даній комбінації умов [5–7].

Генетичні поліморфізми, так само як й інші незмінні чинники, є довічними факторами ризику. Усі зовнішні фактори, такі як дієта й спосіб життя, теоретично можна правильно скоригувати, щоб мінімізувати ризик судинних захворювань. Генетичні фактори не модифікуються, тому є унікальна можливість довгострокової профілактики серцево-судинних і цереброваскулярних захворювань відповідно до індивідуальних генетичних особливостей пацієнтів.

Після проведення повногеномних генетичних досліджень і метааналізу були визначені гени, залучені у патофізіологію серцево-судинних захворювань, і поліморфізми, асоційовані з судинними захворюваннями з високим ступенем ймовірності [7; 8]. Основу для молекулярного та генетичного розуміння чинників схильності індивідумів до формування тромбозів надало сучасне прочитання тріади Вірхова, яка включає зміни у кров'яному потоці, згортанні крові та стінках судин. Біохімічне роз'яснення складної гомеостатичної системи дозволило також розділити гени, які

були встановлені раніше, на такі групи: серцево-судинна система, система гемостазу, просвіт і структура судин [9; 10]. У подальшому гени, що були визначені як значущі, розділили на вісім груп:

1. Система гемостазу (згортання крові).
2. Атеросклероз (цитокіни).
3. Атеросклероз (ліпопротеїни).
4. Обмін ліпідів.
5. Вазоконстрикція та вазодилатація.
6. Ренін-ангіотензинова система.
7. Баланс електролітів.
8. Ремодельовання судин.

Наведений поділ є досить умовним, оскільки багато генів, що нібито керують певним біологічним механізмом, потрібно було б зарахувати, принаймні, до кількох вищезгаданих категорій. Наприклад, метилентетрагідрофолатредуктаза (ген *MTHFR*) залучена у біосинтез фолатів, тому генетичні дефекти в *MTHFR* можуть мати надзвичайно різнобічний вплив, оскільки фолати беруть участь не менш ніж у 50 фундаментальних біосинтетичних реакціях [3]. Ангіотензинперетворювальний фермент (АПФ, ген *ACE*), крім своєї основної дії (протеоліз ангіотензиногену), може також зменшувати загальну активність активатора плазміногену [11; 12], впливати на підвищення активності ендотеліальної синтетази окису азоту. Тим же часом, підвищення концентрації окису азоту приводить до зменшення активності АПФ [13] тощо.

Вплив більшості генів на патофізіологію серцево-судинних захворювань обумовлюється прямо або побічно функціональним станом кровоносних судин, отже, дія кожного конкретного гена на фізіологію судин відрізнятиметься відповідно до розходжень у структурі конкретних типів судин.

Ренін-ангіотензинова система (гени *AGT*, *AGTR1*, *AC* й *REN*) є найбільш загальним механізмом регуляції вазоконстрикції. Крім ренін-ангіотензинової системи, на вазоконстрикцію впливають ендотелінова система (гени *EDN1*, *ECE1*, *EDNRA*), клітинна передача сигналу (гени *GNB3*, *GNAS1*), адренорецептори (гени *ADRB1*, *ADRB2*), синтез окису азоту (ген *NOS3*) і

синтез простагландинів (*PTGS2*, *PTGIS*). Певні структурні білки, наприклад, конексин 37 (ген *GJA4*), залучені у стабілізацію взаємодій між шаром гладенької мускулатури й ендотелієм. Шар ендотелію складається з плоского епітелію, що охоплює просвіт будь-якої кровоносної судини. Ендотелій формує взаємодію між кров'ю, що протікає у просвіті, та іншими шарами стінки судини й відіграє критичну роль у формуванні механізму кров'яного потоку, регулюванні коагуляції, налипанні лейкоцитів, секреції й модифікації вазоактивних речовин тощо. Ріст ендотелію стимулюється васкулярним фактором росту ендотелію (ген *VEGF*) і, частково, фактором, що індукується гіпоксією (ген *HIF1A*). Ендотеліальні клітини містять численні рецептори ліпопротеїнів, ліпази й пов'язані з ними білки (гени *LDLR*, *SREBF1*, *LOX1*, *SCARB1*, *LRP1*, *LPL*, *LIPG* й *ABCA1*), а також рецептори й адгезивні молекули, що залучені в запальну відповідь імунної системи (гени *PPARA*, *PPARG*, *ICAM1*, *SELE*, *IRS1*). Дефекти у генах двох останніх груп призводять до атеросклерозу. Гени, відповідальні за підтримку балансу електролітів крові (*VDR*, *SCNN1B*, *ADD1*, *NPPA*, *NPPB*), також діють через ендотелій (табл. 6.1).

У модифікацію обсягу й розміру просвіту, тобто внутрішнього простору кровоносної судини, який визначає особливості кров'яного потоку, залучені гени аполіпопротеїнів, а також інші гени, що беруть участь у метаболізмі жирів (*APOA1*, *APOC3*, *APOE*, *APOB*, *LPA*, *LIPC*, *CETP*, *FABP2*, *PON1*), гени, що опосередковують запальну відповідь (*CYBA*, *CSF1*, *CSF2*, *CD14*, *IGF1*), гени, що кодувають білки гострої фази запалення (*CRP1*, *SAA1*, *TNFA*, *IL1A*), гени, що відповідають численним білкам молекулярної системи гемостазу, а також синтезу тромбоцитів (*ANXA5*, *CD36*, *F2*, *F3*, *F5*, *F7*, *F10*, *F12*, *F13A1*, *FGA*, *FGB*, *GP1BA*, *ITGA2*, *ITGB3*, *PAI1*, *PROC*, *PROS1*, *SELP*, *SELPLG*, *TAFI*, *TFPI*, *THBD*, *THBS1*, *THPO*).

Процеси коагуляції та фібринолізу посідають особливе місце у гемостазі, тому що саме вони призводять до утворення стійких тромбів, які за відповідних умов є

Таблиця 6.1

Гени факторів згортання крові, поліморфізм яких асоційований із серцево-судинними захворюваннями [1–15]

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>ANXA5</i>	Анексин-5 є антикоагулянтним білком, що по-бічно інгібує тканинний фактор коагуляції (F3)	Поліморфізм-1 С/Т в анек-сині-5 був асоційований зі зменшеним ризиком інфарк-ту міокарда
<i>CD36</i>	Тромбоспондин рецептор 4 — основний глікобі-лок на поверхні тромбоцитів. CD36 зв'язується з колагеном, тромбоспондином, фосфоліпідами та окисненими ліпопротеїдами низької щільності (ЛПНЩ)	Промоторний поліморфізм 53 G/Т асоційований з атероген-ним ліпідним профілем
<i>F2</i>	Протромбін є ключовим білком каскаду коагу-ляції, з якого утвориться тромбін, що перетво-рює фібрин на фібриноген. Протромбін також відіграє роль у підтримці цілісності судин	Поліморфізм 20210 G/А був асоційований з підвищеним рівнем протромбіну в плазмі й уважається досить значущим генетичним фактором ризику венозних тромбозів
<i>F3</i>	Фактор згортання 3 (тканинний фактор) — рецептор для фактора 7, взаємодія з яким при-водить до запуску механізму коагуляції	Поліморфізм 1208 I/D був пов'язаний зі зменшенням рівнів фактора 3 у плазмі та зниженням ризику венозного й артеріального тромбозів
<i>F5</i>	Фактор 5 необхідний як кофактор активації фактора Ха, що, у свою чергу, активізує про-тромбін	Поліморфізм, відомий як «Лейденська мутація» (R506Q), вважається одним із найбільш значущих фак-торів генетичного ризику тромбозів у європеїдів
<i>F7</i>	Вітамін К-залежний фактор згортання VII зв'я-зується з F3 і надалі активізує механізм коагу-ляції при значному ушкодженні судин. Підви-щена активність фактора VII була пов'язана зі зростанням ризику тромбозів	Поліморфізм R353Q був асоційований зі зниженими рівнями фактора VII у плазмі, що відповідає зни-женню ризику тромбозів, інфарктів та інсульту
<i>F10</i>	Вітамін К-залежний фактор згортання X активі-зується фактором IXа або VIIа. FXа перетворює протромбін на тромбін. Високі рівні FX у плазмі пов'язані з підвищеним ризиком тромбозів	Аналіз ефектів поліморфізмів фактора <i>F10</i> — перспектив-ний напрямок у дослідженні генетичних аспектів судин-них захворювань
<i>F12</i>	Фактор XII активує фактори згортання VII і XI. F12 також бере участь у фібринолізі, генерації брадикініну й ангіотензину	Поліморфізм 46C>T пов'яза-ний з рівнями F12 у плазмі
<i>F13A1</i>	Будучи активованим за допомогою протеолізу, фактор XIII (фібрин-стабілізуєчий фактор) набирає активності фібринолігас і формує пере-хресні зв'язки фібринових молекул, стабілізую-чи таким чином тромб. Біологічно активна фор-ма складається із глобул двох типів: альфа й бета	Поліморфізм V34L в альфа-глобулі був асоційований зі зменшеним ризиком венозно-го тромбозу, інфаркту міокар-да й інсульту

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>FGA</i>	Фібриноген — центральний компонент каскаду коагуляції, а також білок гострої фази запалення. Цей глікобілок складається із трьох типів глобул (альфа, бета і гамма)	Поліморфізм 2224 G/A фібриногену-альфа був асоційований з підвищеною частотою інфаркту міокарда
<i>FGB</i>	Підвищені рівні фібриногену-бета у плазмі відповідають підвищеному ризику серцево-судинних захворювань	Поліморфізм 455G>A був пов'язаний зі збільшенням рівня фібриногену
<i>GP1BA</i>	Глікобілок Іb — основний рецептор тромбоцитів, що взаємодіє з коагуляційним фактором Віллебранда. Глікобілок Іb залучений також в агрегацію й клітинну адгезію тромбоцитів. Складається з 4 глобул: GPIba, GPIbb, GPIX і GPV	Поліморфізми T145M й 5 T > C у гені <i>GP1BA</i> (альфа-глобула) були асоційовані із судинними захворюваннями
<i>ITGA2</i>	Інтегрин альфа-2 тромбоцитів (глікобілок IIa) — основний тромбоцитарний рецептор колагену	Поліморфізми <i>ITGA2</i> асоційовані з ІХС, зокрема, з інфарктом міокарда
<i>ITGB3</i>	Інтегрин бета-3 тромбоцитів (глікобілок IIIa) є найчастішим білком на поверхні тромбоцита. Глікобілок IIIa виконує функцію рецептора для фібриноген-індукованої агрегації тромбоцитів	Поліморфізм L33P був асоційований із тромбозами та ішемічною хворобою серця
<i>PAI1</i>	Інгібітор-1 активатора плазміногену, інгібітор фібринолізу, а також маркер запалення	Промоторний поліморфізм 5G/4G був пов'язаний із підвищенням рівня PAI1 і тромбоемболізмом
<i>PLAT</i>	Активатор тканинного плазміногену (PLAT) активує плазміноген, перетворюючи його на плазмін, ключовий фермент фібринолізу. Відповідно зміна рівня PLAT впливає на швидкість розчинення тромбів	Поліморфізм -7351C > T — потенційний фактор ризику для інсульту
<i>PROC</i>	Білок С активується тромбін-тромбомодуліновим комплексом на поверхні ендотелію	Промоторні поліморфізми -654 T > C, -641 A > G асоційовані з рівнем білка С у плазмі й зростанням тромботичного ризику
<i>PROS1</i>	Вітамін К-залежний білок S гальмує утворення кров'яного згустка, специфічно зв'язуючи активований білок С	Поліморфізми в <i>PROS1</i> асоційовані із тромботичними ускладненнями
<i>SELP</i>	P-селектин — молекула міжклітинної адгезії між лейкоцитами й ендотелієм, лейкоцитами і тромбоцитами	Поліморфізм Thr15Pro P-селектину був асоційований з венозною тромбоемболією
<i>SELPLG</i>	Ліганд P-селектину є високоспецифічним рецептором глікобілка P-селектину. Ліганд P-селектину присутній на поверхні нейтрофілів, тромбоцитів, Т-клітин, моноцитів і відіграє критичну роль в адгезії клітин до тромбоцитів або ендотелію	Різні поліморфізми у <i>SELPLG</i> асоційовані зі зменшеним рівнем білка, що приводить до зменшення ризику цереброваскулярних захворювань
<i>TAFI</i>	Тромбін-активований інгібітор фібринолізу, відомий також як карбоксипептидаза B2, пригнічує фібриноліз, видаляючи C-кінцеві лізини й аргінінові залишки, необхідні для	Поліморфізми гена <i>TAFI</i> (включаючи 505 G/A) впливають на рівні білка TAFI й асоційовані зі стенокардією

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>TAF1</i>	зв'язування й активації плазміногену. Білок <i>TAF1</i> активується тромбіном і плазміном у присутності тромбомодуліну як кофактора. Високі рівні <i>TAF1</i> у плазмі є одним із факторів ризику венозного тромбозу	Потенційно поліморфізми <i>TAF1</i> також можуть пояснювати різну схильність до бактеріальних агентів, наприклад <i>Neisseria</i>
<i>TFPI</i>	Інгібітор механізму тканинного фактора коагуляції є важливим регулятором зовнішнього механізму згортання крові	Поліморфізм V264M асоційований з низьким рівнем <i>TFPI</i> у плазмі й коронарних синдромах
<i>THBD</i>	Тромбомодулін — глікобілок на поверхні ендотеліальних клітин, що формує комплекс із тромбіном. Взаємодія тромбіну і тромбомодуліну змінює специфічність тромбіну та призводить до активації білка C, що деградує активовані прокоагулянтні фактори V і VIII. Інакше кажучи, тромбомодулін ніби перетворює частину тромбіну на антикоагулянт	Дефекти в гені <i>THBD</i> призводять до підвищення схильності до тромбозів; поліморфізм A455V асоційований зі збільшеним ризиком інфаркту міокарда
<i>THBS1</i>	Тромбоспондин-1 залучений у міжклітинну адгезію. Білок зв'язує фібриноген, фібронектин, ламінін, колаген V, інтегрини альфа-V/бета-1 і бере участь у процесах агрегації тромбоцитів й ангіогенезі	Поліморфізм N700S у <i>THBS1</i> асоційований з раннім інфарктом міокарда
<i>THPO</i>	Тромбопоетин діє як стимулятор колоній мегакаріоцитів. Мегакаріоцитопоєзис — процес клітинної трансформації, що приводить, врешті-решт, до продукції тромбоцитів	Поліморфізми в тромбопоетині були пов'язані з ранньою ішемічною хворобою серця

безпосередніми причинами серцево-судинних порушень. Початок коагуляції відбувається при значному ушкодженні судин, що спричиняє проникнення тканинного фактора згортання (ген *F3*) у кров'яне русло. Слідом за цим утворюється комплекс F3-F7a, що активує фактори F9 і F10. У свою чергу, F10a і кофактор F5a утворюють антитромбіназний комплекс, що потім активує тромбін — центральний компонент молекулярного каскаду коагуляції крові. У результаті активований тромбін каталізує перетворення фібриногену (гени *FGB*, *FGA*) на фібрин. Лізис фібринового згустка відбувається завдяки плазміну, який утворюється з плазміногену. Дія тканинного активатора плазміногену може бути припинена специфічним білком-інгібітором (ген *PAI1*). Механізм коагуляції розпочинається також за умов присутності будь-якої чужорідної частинки у кров'яному руслі або

на стінці судини (наприклад, за наявності ендотеліальної дисфункції).

Крім загальної схеми атеросклеротичного процесу, що призводить до тромбозу, існує чимало інших факторів, що визначають схильність до утворення атеросклеротичних бляшок. Ці фактори пов'язані, насамперед, із процесами запалення та імунної відповіді. Причинами запалення, прямими або опосередкованими, є бактерії, неправильне харчування, шкідливі звички, а також генетична схильність. Існує кілька різних механізмів, що призводять до запалення (наприклад, підвищена концентрація аніона перекису, окиснювання фосфоліпідів, хемотаксис цитокінами, клітинна адгезія лейкоцитів тощо), і всілякі гени, що експресуються у різних типах клітин, залучені як у процеси запалення, так і у процеси імунної реакції на запалення. Поліморфізми деяких генів були асоційовані із судинними захворюваннями (табл. 6.2).

Гени, поліморфізми яких були асоційовані з атеросклерозом [15–27]

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>ACBS</i>	Цистатіонін-бета-синтаза каталізує перетворення L-серину та L-гомоцистеїну на цистатіонін. Фермент найбільше експресується у цитоплазмі клітин печінки й підшлункової залози. Гіпергомоцистеїнемія — встановлений фактор ризику розвитку атеросклерозу	Поліморфізм 833T/C у <i>CBS1</i> був асоційований з ішемічною хворобою серця
<i>CD14</i>	Антиген диференціації моноцитів — глікоболок, що експресується у моноцитах, макробактеріофагах і гранулоцитах; CD14 функціонує як посередник при активації макробактеріофагів ендотоксинами оболонки грамнегативних бактерій	Поліморфізми -260C/T і -159T/C асоційовані з підвищенням артеріального стенозу
<i>CRP</i>	C-реактивний білок — основний білок гострої фази, присутній у плазмі; CRP є маркером початку запалення і, можливо, відіграє певну роль у патогенезі атеросклеротичних ушкоджень. Рівні CRP у плазмі дозволяють передбачати повторний інфаркт міокарда	Поліморфізм 1059 G > C асоційований з атеросклерозом
<i>CSF1</i>	Фактор стимуляції колоній макрофагів, використовується для керування розмноженням, диференціацією й функцією макрофагів. Білок CSF1, імовірно, залучений в утворення первинних жирових відкладень, а також у прогресування атеросклерозу до армування волокнистим білковим матеріалом. Рівні CSF1 у плазмі корелюють з атеросклерозом	Функціональні поліморфізми у цьому гені існують, але поки не асоційовані із судинними захворюваннями
<i>CSF2</i>	Фактор стимуляції колоній гранулоцитів і макрофагів — це цитокін, що залучений у керування розмноженням, диференціацією й функцією як гранулоцитів, так і макрофагів	Поліморфізм I117T в <i>CSF2</i> був асоційований з посиленням коронарного атеросклерозу та післяопераційною реваскуляризацією
<i>CYBA</i>	Цитохром В-альфа, також відомий як “P22phox” і «NADH/NADPH оксидаза фагоцитів», відіграє критичну роль у генерації аніона перекису в мікробіцидній оксидазній системі фагоцитів. Генерація перекисного аніона залучена у патогенез гіпертонії й атеросклерозу	Поліморфізми гена <i>CYBA</i> , включаючи C242T, були асоційовані з ішемічною хворобою серця
<i>ICAM1</i>	Молекула міжклітинної адгезії-1 експресується в ендотеліальних клітинах і клітинах імунної системи. Продукція білка ICAM-1 (CD54) стимулюється цитокінами. Білок відіграє важливу роль у міжклітинній адгезії, що утворює шар ендотелію	Високий рівень ICAM-1 у плазмі та поліморфізм K469E були асоційовані з атеросклерозом, інсультом, а також з післяопераційним інфарктом міокарда
<i>IGF1</i>	Інсуліноподібний фактор росту 1 опосередковує адгезію лейкоцитів на ендотелії. Рівні IGF-1 були пов'язані з підвищенням ризику атеросклерозу	Промоторний поліморфізм -1411 C > T був асоційований з інфарктом міокарда, а поліморфізм 192del2 — з більш високою частотою інфаркту міокарда при діабеті 2 типу

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>IL1A</i>	Інтерлейкін-1а — найважливіший прозапальний цитокін, що продукується моноцитами й макрофагами. Цей цитокін виробляється у відповідь на ушкодження або некроз клітин. ІЛ-1 стимулює розмноження тіоцитів та В-клітин. Рівень ІЛ-1 в атеросклеротичних бляшках збільшений	Поліморфізми в гені <i>IL1A</i> асоційовані із прогресуючим періодонтитом. Системне запалення превалює при періодонтиті і призводить до атерогенезу
<i>IRS1</i>	Субстрат рецептора 1 інсуліну залучений у внутрішньоклітинний контроль ефектів стимулювання інсуліном. При ожирінні інсуліно-резистентність часто супроводжується атеросклерозом	Різні поліморфізми в <i>IRS-1</i> були асоційовані з інсуліно-резистентністю й ІХС. Варіант G972R пов'язаний з виникненням атеросклерозу, викликає ендотеліальну дисфункцію, тому що G972R приводить до стабілізації білок-білкового контакту IRS-1 з рецептором інсуліну і, таким чином, гальмує самофосфорилювання рецептора
<i>MBL2</i>	Маноза-зв'язувальний лектин є рецептором манози і N-ацетилглюкозамінів бактеріальних патогенів. Білок MBL2 активує каскад комплексу	<i>MBL2</i> 5ŸLYQA — секреторний гаплотип, пов'язаний з підвищенням ризику післяопераційного інфаркту міокарда
<i>MTHFR</i>	Метилентетрагідрофолатредуктаза каталізує перетворення 5,10-метилентетрагідрофолату на 5-метилтетрагідрофолат. Активність <i>MTHFR</i> впливає на рівні фолатів у плазмі крові	Дефекти метаболізму фолатів призводять до зниження рівня фолієвої кислоти та високих рівнів гомоцистеїну (гіпергомоцистеїнемія). Обидва ці порушення впливають на багато органів і тканин, включаючи ниркову тканину, мозок й ендотелій. Варіант C677T поліморфізму 677 C/T відповідає зниженню термічної стабільності білка й асоційований з гіпергомоцистеїнемією, тромбозами, атеросклерозом та іншими серцево-судинними захворюваннями
<i>PON1</i>	Параоксоназа-1, крім детоксикації ятрогенних органофосфатів, також нейтралізує запальну дію ліпідів окиснених ЛПНЩ, захищаючи, таким чином, судини від атеросклерозу	Поліморфізми в <i>PON1</i> модулюють активність ферменту й експресію гена (55 L/M, 192 Q/R й -107 C/T) і асоційовані з неальцгеймерівською деменцією і серцево-судинними захворюваннями
<i>PON2</i>	Параоксоназа-2 здебільшого міститься у печінці, як і PON1. Цей мембранно-зв'язаний білок запобігає окисдації ЛПНЩ. Активність PON2 може гальмувати також індукцію хемотаксису моноцитів	Поліморфний варіант 311S був асоційований з більш низьким ризиком ішемічної хвороби серця та інсульту

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>PPARA</i>	Пероксисомний проліфератор-активуючий альфа-рецептор. Пероксисомні проліфератори — речовини, що стимулюють збільшення розміру та кількості пероксисом усередині клітин. Вплив пероксисомних проліфераторів (наприклад, гіполіпідемичні ліки та/або жирні кислоти) опосередковується специфічними внутрішньоядерними рецепторами типу PPAR, які, зокрема, впливають на експресію деяких генів, залучених в імунну відповідь і запалення	Поліморфізми L162V і V227A в <i>PPARA</i> впливають на рівні ліпопротеїнів у плазмі і можуть підвищувати схильність до атеросклерозу
<i>SAA1</i>	Плазмовий амілоїд типу «А» — один з основних білків гострої фази, а також компонент частинок ЛПВЩ. Рівень SAA у плазмі може збільшуватися в кілька разів у відповідь на інфекції й запалення. Білок SAA є присутнім в атеросклеротичних бляшках	Поліморфізм V52A був асоційований із системними амілоїдозами та зі збільшенням ризику атеросклерозу
<i>SELE</i>	Е-селектин починає експресуватися в ендотеліальних клітинах у відповідь на запалення. Білок відповідає за клітинну адгезію лейкоцитів на артеріальному ендотелії	Високі рівні ICAM-1, VCAM-1 й Е-селектину, а також поліморфізм 98 G > T гена <i>SELE</i> впливають на рівні ліпідів, а також на ризик післяопераційного інфаркту міокарда
<i>TNFA</i>	Альфа-фактор некрозу пухлин — прозапальний цитокін, що продукується макрофагами й моноцитами	Принаймні 3 промоторних поліморфізми гена <i>TNFA</i> були асоційовані, зокрема, зі збільшенням запалення та підвищенням ризику атеросклерозу

У разі порушення механізму перетворення жирів або за рахунок споживання надлишку жирів (внаслідок незбалансованої дієти), або через певні генетичні дефекти виникають різні патологічні стани, що призводять до депонування холестерину на стінках судин, тобто початкової стадії атеросклерозу. Незважаючи на те, що існує безліч різних генів, що залучені у відповідні молекулярні каскади метаболізму жирів, поліморфізми тільки деяких із цих генів були достовірно асоційовані з атеросклерозом і судинними захворюваннями. Утворення атеросклеротичних бляшок залежить, зокрема, від рівнів різних ліпідів і ліпідних частинок у кров'яному потоці, а також від характеру взаємодій ліпідних частинок зі стінками судин (табл. 6.3).

Важливу роль у підтримці рівнів тригліцеридів і вільних жирних кислот, а та-

кож у регуляції інсулінорезистентності відіграють адипоцити — клітини жирової тканини. Одним із вагомих факторів ризику судинних захворювань є ожиріння. Жирова тканина — це важливий ендокринний орган, що продукує деякі гормони — лептин, резистин і цитокін TNF-а [34]. Поліморфізми генів, що беруть участь у регуляції обмінних процесів жирової тканини, тісно пов'язані з можливістю виникнення серцево-судинних захворювань (табл. 6.4).

Біохімічні фактори, що викликають вазоконстрикцію, відомі як вазоконстриктори або вазопресори. Вазоконстрикція здебільшого є результатом зростання внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} , що призводить до спазму гладенької мускулатури, отже, до спазму судин. Протилежний процес, вазодилатація, — це розширення про-

Таблиця 6.3

**Гени ліпотропних білків, поліморфізми яких були асоційовані
із серцево-судинними захворюваннями [29–36]**

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>ABCA1</i>	АТФ-азний мембранозв'язаний касетний транспортер-1 — трансмембранний канал, що функціонує як припливний насос для холестерину, також регулює видалення клітинних ліпідів. Підвищена активність або експресія <i>ABCA1</i> приводить до антиатерогенного ліпідного профілю	Поліморфізми G-191C, C-17G, R219K тощо були асоційовані зі ступенем атеросклерозу, рівнями тригліцеридів і серцево-судинними захворюваннями
<i>APOA1</i>	Аполіпопротеїн А1 — основний аполіпопротеїн частинок ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ)	Поліморфізми -76 G>A й +83C > T у промоторі гена <i>APOA1</i> були асоційовані зі зменшеною активністю промотора, більш низькими рівнями <i>APOA1</i> і ЛПВЩ
<i>APOB</i>	Аполіпопротеїн В — основний білковий компонент ЛПНЩ (Apo100, печінкова форма)	Поліморфізми Sp Ins/Del, T71I, Xba й інші були асоційовані з ІХС, зокрема, з інфарктом міокарда
<i>APOC3</i>	Аполіпопротеїн С3 — основний компонент частинок ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) і ЛПВЩ	Промоторні поліморфізми -455T/C та -482C/T асоційовані з підвищеними рівнями <i>APOC3</i> і тригліцеридів у плазмі, зі зниженими рівнями ЛПВЩ і збільшенням ризику ішемічної хвороби серця
<i>APOE</i>	Аполіпопротеїн Е — компонент частинок ЛПДНЩ і ЛПВЩ	Поліморфізм E2 (Arg158Cys) асоційований з більш низькими рівнями загального холестерину в плазмі, тимчасом як інший поліморфізм, E4 (Cys112Arg), — зі збільшенням рівня холестерину та з підвищеним ризиком хвороби Альцгеймера, атеросклерозу, інфаркту міокарда
<i>CETP</i>	Транспортний білок холестеринових ефірів, залучений у перенесення нерозчинних холестеринів-ефірів між різними типами ліпопротеїнових частинок	Поліморфізм Taq в <i>CETP</i> був асоційований з передчасним інфарктом міокарда в курців
<i>CYP7A1</i>	Холестерин 7-альфа-гідроксилаза каталізує перший етап синтезу жовчних кислот — гідроксилування холестерину	Поліморфізм 204A>C асоційований зі змінами в рівнях ЛПНЩ і тригліцеридів
<i>FABP2</i>	Білок, що зв'язує жирні кислоти 2, залучений у внутрішньоклітинний транспорт і метаболізм жирних кислот	Поліморфізми гена впливають на чутливість до інсуліну та метаболізм глюкози
<i>LDLR</i>	Рецептор ЛПНЩ залучений в ендцитоз ЛПНЩ	Поліморфізми T2052C, C1866T й інші були асоційовані з гіперхолестеринемією та ішемічною хворобою серця

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>LIPC</i>	Печінкова ліпаза є важливим компонентом метаболізму ЛПВЩ	Промоторні поліморфізми -514C/T (-480C/T) і -250G/A асоційовані з гіперхолестеринемією
<i>LIPG</i>	Ендотеліальна ліпаза залучена у метаболізм ліпопротеїнів (а саме ЛПВЩ)	Поліморфізм 584C/T у гені <i>LIPG</i> пов'язаний з рівнями холестерину ЛПВЩ і асоційований з інфарктом міокарда
<i>LOX1</i>	Лектиноподібний рецептор окисненого ЛПНЩ («збирач типу Е1», OLR1) зв'язує й деградує окиснені форми ЛПНЩ. Окиснений ЛПНЩ призводить до запальних реакцій і преципітації атеросклеротичних мас	Поліморфізми +1073C/T і G501C у гені <i>LOX1</i> асоційовані із хворобою Альцгеймера та з інфарктом міокарда
<i>LPA</i>	Аполіпопротеїн (а) — основний компонент ліпопротеїну (а) або Lp(a), що являє собою ЛПНЩ-подібні частки з білком апо (а), ковалентно приєднаним до апо. Вважається, що високий рівень Lp(a) у плазмі є фактором ризику ішемічної хвороби серця	Поліморфізми і варіанти повторів крингл-IV впливають на рівні ліпідів, таким чином регулюючи ризик ішемічної хвороби серця
<i>LPL</i>	Ліпопротеїнова ліпаза активується аполіпопротеїном С2, а її основна функція — це гідроліз тригліцеридів при внутрішньоклітинній переробці ліпідів, опосередкований ліпопротеїн-рецепторами	Поліморфізми D9N й N291S асоційовані з підвищенням рівнів тригліцеридів, ЛПДНЩ, низьким рівнем ЛПВЩ і зростанням ризику хвороби Альцгеймера, а також ішемічної хвороби серця
<i>LRP1</i>	ЛПНЩ-зв'язаний білок 1 залучений в очищення плазми від залишків хіломікронів. LRP1 білок — основний рецептор АРОЕ, який також взаємодіє з LPL. Білок може функціонувати і як регулятор коагуляції, бере участь в утворенні комплексів між плазміноген-активаторами й ендогенними інгібіторами	Поліморфізми -25 C > G й C766T у гені <i>LRP1</i> асоційовані з неврологічними розладами (хвороба Альцгеймера, зокрема), а також можуть призводити до підвищеного ризику інсульту
<i>MTTP</i>	Мікросомний білок перенесення тригліцеридів бере участь у транспорті тригліцеридів, ефірів холестерину й фосфоліпідів між фосфоліпідними частинками	Поліморфізми в промоторній ділянці (-493 G/T, зокрема) були асоційовані з підвищеним запаленням і фіброзом тканин
<i>SCARB</i>	Рецептор-збирач класу 1 — рецептор ЛПВЩ	Варіант “ехоп-1” асоційований зі зростанням рівня ЛПВЩ-холестерину, зниженням рівня ЛПНЩ-холестерину та зміною ризику облітеруючих захворювань периферійних артерій
<i>SREBF1</i>	SRE (стерин-регулювальні елементи) — це короткі послідовності в ДНК, що опосередковують транскрипційні ефекти стероїдних гормонів. Після протеолізу, що активує білок, SRE-з'єднувальний фактор транскрипції транспортується в клітинне ядро й активує транскрипцію генів, що містять SRE	Поліморфізми у <i>SREBF1</i> асоційовані зі зміною рівнів загального холестерину та ЛПНЩ-холестерину

світу кровоносної судини внаслідок розслаблення гладенької мускулатури. Ці два процеси модулюються автономною нервовою системою і наднирковими залозами, що виділяють катехоламіни: епінефрин (адреналін) і норепінефрин (норадреналін). Залежно від того, які генетичні варіанти притаманні тій чи іншій особі, індивідуальний ризик виникнення гіпертензивних станів для неї є різним (табл. 6.5).

Особливе місце в регуляції вазоконстрикції та вазодилатації посідає ренін-ангіотензинова система, яка регулює довгостроковий кров'яний тиск. Система активується при значному зменшенні об'єму крові або падінні кров'яного тиску. При зменшенні об'єму перфузії юкстагломерулярного апарату нирок юкстагломерулярні клітини, що регулюють нирковий кровотік і швидкість гломерулярної фільтрації, виділяють фермент ренін. Ренін перетворює неактивний пептид ангіотензиноген на ангіотензин I. Ангіотензин I потім трансформується в ангіотензин II за допомогою ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ). Ангіотензин II — це один із найпотужніших вазоконстрикторів. У нирках ангіотензин II приводить до стискання гломерулярних артеріол, змінюючи, таким чином, швидкість гломерулярної фільтрації. У корі надниркових залоз ангіотензин II викликає виділення альдостерону. Альдостерон, у свою чергу, впливає на ниркові каналці, що сприяє реабсорбції більшої кількості іонів натрію і води із сечі за рахунок витиснення іонів калію в ниркові каналці. Альдостерон також впливає на центральну нервову систему, збільшує попит до солі, викликає відчуття спраги. У клінічній практиці маніпулюють ренін-ангіотензиновою системою з метою зниження високого кров'яного тиску. Різноманітні інгібітори АПФ використовуються для того, щоб зменшити утворення більш потужного вазопресора ангіотензину II з більш слабого вазопресора ангіотензину I (табл. 6.6).

Функціонування ренін-ангіотензинової системи тісно пов'язане з електролітами організму. Електроліти, катіони й аніо-

ни, відіграють безпосередню роль у підтримці гомеостазу. Клітини використовують електроліти для підтримки градієнтів напруження на клітинній мембрані, таким чином регулюючи серцеві й неврологічні функції, баланс рідин, постачання кисню, кислотно-основний баланс і багато інших процесів. Нирки підтримують постійні концентрації електролітів у крові, незважаючи на зміни в організмі. Порушення балансу електролітів можуть виникати внаслідок надмірного або недостатнього споживання, а також через надмірне або недостатнє видалення електролітів через нирки. Найбільш серйозні збої балансу електролітів включають аномальні рівні іонів натрію, калію, магнію та/або кальцію (табл. 6.7).

Стан кровоносних судин багато важить в етіології або перебігу практично будь-якого захворювання. Ангіогенез включає утворення та ріст нових судин, і цей процес пов'язаний з аеробними фізичними вправами та вправами на витривалість. Стан кровоносних судин у значній мірі залежить від механічних властивостей сполучної тканини, що утворює зовнішній шар судини. Зокрема, механічна структура сполучної тканини може ремодельоватися за допомогою різних металопротеїназ (табл. 6.8).

Однак аналіз ступеня інформативності встановлених асоціацій виявив їх невисоку прогностичну значущість, що не дає реальної можливості використовувати їх як індивідуальні прогностичні критерії схильності до розвитку атеросклерозу або інфаркту міокарда [4; 5; 7]. Серед вивчених поліморфізмів лише 22 виявилися функціонально значущими для розвитку серцево-судинних захворювань (табл. 6.9). У двох зі згаданих у літературі дослідженнях такі поліморфізми не були оцінені як функціональні (рецептор ендотеліну A (*EDNRA*) *C69T*, *VEGF C-590T*), але виявилось, що навіть нефункціональні поліморфізми, імовірно, можуть мати значення у порушенні фенотипної рівноваги [8]. Референтні номери одонуклеотидних поліморфізмів (SNP) з бази даних Database of Single

Гени, що беруть участь у регуляції обмінних процесів у жировій тканині, поліморфізми яких були асоційовані з серцево-судинними захворюваннями [37–49]

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>ADRB3</i>	Адренергічний рецептор бета-3 розташований, головним чином, в адипоцитах і необхідний для регуляції ліполізу	Поліморфізм W64R в <i>ADRB3</i> асоційований з підвищенням рівня тригліцеридів плазми, ожирінням і гіпертонією
<i>GCCR</i>	Глюкокортикоїдний рецептор <i>GCCR</i> (NR3C1) є фактором транскрипції й зв'язується на спеціальних ділянках ДНК (глюкокортикоїд-регуляторні елементи, GRE), розташованих у промоторах багатьох генів	Поліморфізм N363S у <i>GCCR</i> впливає на рівень холестерину в плазмі й ризик ожиріння
<i>LEP</i>	Лептин — адипоцит-специфічний гормон, що регулює масу жирової тканини та відіграє критичну роль у регулюванні маси тіла, стимулюючи витрату енергії. Рівні лептину також можуть стимулювати агрегацію тромбоцитів. Пацієнти з ішемічною хворобою серця характеризуються підвищеними рівнями лептину в плазмі крові	<i>LEP</i> поліморфізм A19G асоційований зі зменшенням рівня інсуліну плазми, збільшенням рівня лептину та ожирінням
<i>LEPR</i>	Гормон лептин діє через лептин-рецептор	<i>LEPR</i> поліморфізми Q223R й R109K асоційовані з гіперліпідемією, чутливістю до інсуліну та ожирінням
<i>PPARG</i>	Пероксисомний проліфератор — гамма-рецептор — регулятор диференціації адипоцитів	Поліморфізми <i>PPARG</i> P12A та C161T асоційовані з ожирінням, атеросклерозом і ризиком ішемічної хвороби серця

Nucleotide Polymorphisms (website: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>), хромосомна позиція гена, зміни послідовності нуклеотидних основ, середня гетерозиготність (параметр генетичної розмаїтості, що описує, яку частку в популяції становлять особини, гетерозиготні за досліджуваними маркерами, з усередненням цього параметра за набором використаних маркерів) й заміна амінокислот для кожного поліморфізму наводяться у табл. 6.9.

Висока частота алелей вивчених генів, згідно з даними, представленими у табл. 6.9, припускає низький ризик спадкового фактора. Такі гени можуть зробити свій внесок у розвиток захворювань серцево-судинної системи тільки у сполученні з екзогенними й ендегенними впливами [12].

Пусковим моментом розвитку серцевої недостатності може служити інфаркт міокарда, що запускає деструктивний цикл, у

результаті якого порушуються процеси обміну в міокарді, змінюється морфологія клітини, призводячи до патологічного ремоделювання міокарда й фіброзу [13]. Потрібно враховувати, що хронічна ішемія міокарда може також призвести до подібних змін [14]. Зазначені клітинні зміни поступово модифікують ультраструктурні властивості шлуночків серця. Ремоделювання, що спочатку виникає як адаптивна реакція для поліпшення роботи серця, у довгостроковому прогнозі стає контрпродуктивним і неадекватним щодо потреб органа [15]. Ключовий посередник цього процесу — нейрогормональна активація, у якій задіяні регулятори системи ангіотензин-ренін-альдостерону, симпатичної нервової системи, факторів росту і прозапальних цитокінів. Розглядаючи фундаментальну роль нейрогормональних факторів у патофізіології й прогресії серцевої дис-

Таблиця 6.5

Гени вазоконстрикторних пептидів, поліморфізми яких асоційовані з серцево-судинними захворюваннями [41–50]

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>ADRB1</i>	Адренергічні рецептори альфа-1, альфа-2, бета-1 і бета-2 опосередковують фізіологічні ефекти адреналіну і норадреналіну	Варіанти S49G й R389G в <i>ADRB1</i> асоційовані з гострим інфарктом міокарда
<i>ADRB2</i>		Варіанти Arg16Gly, Gln27Glu <i>ADRB2</i> асоційовані зі схильністю до астми й гіпертонії. Ці поліморфізми також можуть регулювати відповідь на фізичні навантаження
<i>EDN1</i>	Ендотелін-1 — вазоконстрикторний пептид, що продукується судинним ендотелієм	Поліморфізм K198N асоційований зі збільшенням вазоконстрикції та кров'яного тиску
<i>ECE1</i>	Ендотелін-трансформуючий фермент 1, змінює ендотелін-1 на біологічно активні форми	Зміна експресії даного гена може вплинути на щільність артеріальних стінок і кров'яний тиск. Промоторний поліморфізм в <i>ECE1</i> асоційований з гіпертонією
<i>EDNRA</i>	Ендотелін-1 діє через два рецептори, типу «А» і типу «В»	Поліморфізм гена <i>EDNRA</i> 1363 C > T асоційований зі змінами кров'яного тиску
<i>GNAS1</i>	Гуанін нуклеотид-зв'язуючий білок (G-білок) альфа-стимулюючої активності, необхідний для активації внутрішньоклітинної передачі сигналу через аденілілциклазу в гладенькій мускулатурі серця й судин	Поліморфізм T393C був асоційований з гіпертонією і може пояснити деякі розбіжності у відповідях пацієнтів на лікування бета-блокаторами
<i>GNB3</i>	Поліпептид бета-3 білок (G-білок) — це бета-глобула гетеротримерного G-білка, що передає сигнал від рецепторів до внутрішньоклітинних ефекторних білків	Поліморфізм C825T в <i>GNB3</i> асоційований з вазоконстрикцією і гіпертонією
<i>NOS3</i>	Ендотеліальна синтаза окису азоту. Рівні двовалентного окису азоту (NO) впливають на стінки судин, агрегацію тромбоцитів, розмноження клітин гладенької мускулатури судин і клітинну адгезію лейкоцитів	Поліморфізми гена <i>NOS3</i> асоційовані з підвищеними рівнями окису азоту та ризиком судинних захворювань
<i>PTGIS</i>	Простаглієн-2 є сильним вазопресором і ендогенним інгібітором агрегації тромбоцитів. Простаглієнсинтаза каталізує ізомеризацію простаглієну H2 у простаглієн	Поліморфізм 1117C>A асоційований з підвищеним кров'яним тиском
<i>PTGS2</i>	Простаглієн-ендопероксид синтаза 2 (також відома як циклооксигеназа 2) — ключовий фермент біосинтезу простаглієнів. Активність <i>PTGS2</i> пов'язується з такими фізіологічними подіями, як ушкодження тканини, запалення і розмноження клітин. Протизапальна дія нестероїдних протизапальних лікарських засобів ґрунтується на ковалентному зв'язуванні саліцилової кислоти в активному центрі циклооксигенази 2	Промоторний поліморфізм у <i>PTGS2</i> асоційований з товщиною інтими судин, рівнями запалення й цереброваскулярною ішемією

Гени, що контролюють ренін-ангіотензинову систему, поліморфізми яких асоційовані з серцево-судинними захворюваннями [21–32]

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>AGT</i>	Ангіотензиноген — попередник вазопресорів ангіотензину I й ангіотензину II. Крім вазопресії, ангіотензини також можуть викликати запальні реакції на стінках судин. Високий рівень AGT у плазмі асоційований з артеріальною гіпертонією, стовщенням інтими каротидної артерії, аорти і вінцевих артерій	Поліморфізми T174M й M235T у гені <i>AGT</i> асоційовані з підвищеним рівнем AGT і гіпертонією
<i>AC</i>	Ангіотензин-перетворювальний фермент перетворює ангіотензин I на ангіотензин II шляхом протеолізу. Цей фермент виявлено у багатьох тканинах, включаючи нирки й серце	Присутність поліморфізму I/D (інсерція/делеція) корелює з рівнями АПФ у плазмі; гомозиготи DD відповідають підвищеному рівню АПФ. У багатьох дослідженнях DD-варіант був асоційований з інфарктом міокарда, а також інсультом і незалежною гіпертонією
<i>AGTR1</i>	Ангіотензин-рецептор 1 — основний рецептор ангіотензинів, що трапляється, зокрема, у печінкових і ниркових клітинах. Рецептор опосередковує серцево-судинні ефекти ангіотензинів	Поліморфізм A1166C в <i>AGTR1</i> був асоційований з ішемічною хворобою серця та з інфарктом міокарда й гіпертонією
<i>REN</i>	Ренін протеолізує ангіотензиноген в ангіотензин I	Поліморфізм -5312 C/T у гені <i>REN</i> асоційований з підвищеним кров'яним тиском

функції, а також патологічного ремоделювання міокарда, поліморфні варіанти нейрогормональних генів стають логічними кандидатами на роль біомаркерів серцевої дисфункції [16].

У табл. 6.10 наводяться результати досліджень і асоціації між різними поліморфізмами та ризиком серцево-судинних захворювань в індивідуальних дослідженнях. Сім генетичних поліморфізмів (*ACE* I/D), *AGT* M235T, *ADRA2C* Del322-325, *ADRB2* Arg16Gly, *ADRB2* Gln27Glu, *EDN1* Lys198Asn, *VEGFG*-405C) показали істотний зв'язок із ризиком гіпертонії [15–18]. Персональне генотипування було індиферентне щодо фенотипу в чотирьох дослідженнях [19; 20], втім, надійність процедури генотипування підтверджена дев'ятьма дослідженнями [19; 21–24].

Пошук локусів чутливості до серцево-судинних захворювань ускладнюється

великою кількістю задіяних локусів й алелей чутливості [25]. Пояснення патогенезу захворювання потребувало б дослідження взаємозв'язку для багатьох варіантів генів, які задіяні у різних патофізіологічних механізмах цієї складної патології [26–28]. Розвиток серцево-судинної патології звичайно відбувається у старшому віці. Це означає, що частота хворих серед родинних пар або сімейних тріо, необхідних для широкогеномного скринінгу й досліджень спадкового взаємозв'язку, істотно збільшується, що може бути проблематично, як з погляду біоінформаційного аналізу, так і фінансового забезпечення [29–32]. Отже, пояснення молекулярної генетики серцево-судинних захворювань значною мірою залежить від дизайну й суворого дотримання вимог до досліджень генетичних асоціацій у майбутньому.

Таблиця 6.7

Гени, що регулюють фільтраційну функцію нирок, поліморфізми яких були асоційовані з серцево-судинними захворюваннями [39–49]

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>ADD1</i>	Альфа-адудин стимулює створення спектрин-актинових мереж у цитоскелеті клітинної мембрани. Білок був виявлений у більшості тканин; зокрема, білок регулює внутрішньоклітинну передачу сигналу в клітинах ниркових каналців	Поліморфізм G460W асоційований із солезалежною гіпертонією
<i>CYP11B2</i>	Цитохром 11B2 синтезує альдостерон і 18-оксокортизол. Альдостерон зменшує ниркове виділення іонів натрію й стимулює виділення іонів калію. Альдостерон синтезується з холестерину в наднирковій залозі у відповідь на збільшення рівня ангіотензину II або рівня калію в плазмі крові	Поліморфізм C344T в <i>CYP11B2</i> був асоційований зі зростаючими рівнями альдостерону, гіпертонією, інфарктом міокарда
<i>HSD11B2</i>	Кортизол — кортикостероїдний гормон, залучений у фізіологічну відповідь на стрес. Кортизол збільшує кров'яний тиск і підвищує рівень цукру в крові. Фермент 11-гідроксистероїд дегідрогеназа перетворює кортизол у неактивний кортизон, модулюючи, таким чином, внутрішньоклітинні рівні глюкокортикоїдів й інгібуючи взаємодії між альдостерон-рецепторами та глюкокортикоїдами. Найбільшу кількість даного білка було виявлено в нирках, підшлунковій залозі та простаті	Поліморфізми у гені <i>HSD11B</i> асоційовані з гіпертонією, зокрема, із солезалежною гіпертонією
<i>NPPA</i>	Натрійуретичний пептид А. Натрійуретичні пептиди А і В — серцеві гормони, що відіграють ключові ролі в серцево-судинному гомеостазі. Надзвичайно високі концентрації обох пептидів у крові свідчать про серцеву недостатність	Поліморфізми 2238 Т/С й G664А гена пропептиду <i>NPPA</i> асоційовані із кров'яним тиском, ішемічною хворобою серця та інсультом
<i>NPPB</i>	Натрійуретичний пептид В — серцевий гормон, що продукується шлуночками серця, залучений у керування позаклітинним об'ємом рідини. Фізіологічна активність пептиду призводить до натрійурезу, діурезу, вазодилатації, інгібування секреції реніну й альдостерону	Поліморфізм -381 С/Т гена пропептиду <i>NPPB</i> асоційований з рівнями гормону, гіпертонією та коронарними спазмами
<i>SCNN1B</i>	Натрій-вентильний канал 1 бета (амілорид-чутливий епітеліальний натрій-канал, ENa) опосередковує дифузію іонів натрію з просвіту через епітеліальний шар стінки судини. Цей іонний канал також регулює реабсорбцію натрію в нирках	Поліморфізм W493R в <i>SCNN1B</i> асоційований зі зростанням ризику інсульту
<i>VDR</i>	Рецептор вітаміну D — внутрішньоядерний рецептор для вітаміну D3. Шкіра забезпечує тіло вітаміном D на 80–100 %. Вік, географічна широта місця проживання, перебування на сонці, пора року, пігментація шкіри, а також <i>VDR</i> поліморфізми — всі ці фактори впливають на ендогенну продукцію вітаміну D. За останніми даними, <i>VDR</i> також впливає на токсикокінетику свинцю	Поліморфізми <i>VDR</i> асоційовані зі змінами щільності кісток, зменшеними рівнями активного вітаміну D у плазмі і можуть поглиблювати тяжкість перебігу ішемічної хвороби серця. Поліморфізми в гені <i>VDR</i> асоційовані з гіпертонією, ризиком інфаркту міокарда й агресивним періодонтизом

Гени білків ангиогенезу, поліморфізми яких були асоційовані з серцево-судинними захворюваннями [21–27]

Назва гена	Функції гена	Вплив поліморфізмів
<i>GJA4</i>	Проміжний білок альфа-4 (конексин 37) опосередковує взаємодії між ендотелієм і шаром гладенької мускулатури. Рівень білка підвищується на ранніх стадіях атеросклерозу	Поліморфізм C1019T асоційований з ризиком атеросклерозу й ішемічної хвороби серця
<i>HIF1A</i>	Фактор-1, що індукується гіпоксією (HIF1), — транскрипційний фактор, який відіграє істотну роль у внутрішньоклітинній та системних гомеостатичних реакціях на стан гіпоксії, регулюючи активність генів енергетичного метаболізму й ангиогенезу	Поліморфізм T418I C > Trs 10873142 в <i>HIF1</i> асоційований з ішемічною хворобою серця
<i>MMP1</i>	Матриксна металопротеїназа 1 (фібробласт колагеназа), а також інші металопротеїнази деградують позаклітинну матрицю	Поліморфізм -1607 G/G у <i>MMP1</i> асоційований з порушеннями функції легенів, ревматоїдним артритом і хворобою Альцгеймера
<i>MMP3</i>	Матриксна металопротеїназа 3 (стромелізин), що деградує фібронектин, ламінін і колаген-IV	Промоторні поліморфізми в <i>MMP3</i> асоційовані зі ступенем атеросклерозу й ризиком повторного інфаркту міокарда
<i>MMP9</i>	Матриксна металопротеїназа 9 деградує колаген IV, V позаклітинної матриці. Рівні MMP9 у плазмі корелюють зі ступенем атеросклерозу при ішемічній хворобі серця	Поліморфізм -1562 C/T асоційований з атеросклерозом
<i>MMP12</i>	Матриксна металопротеїназа 12 деградує еластину	Поліморфізм 82 A/G в <i>MMP12</i> пов'язується зі звуженням просвіту, аневризмою аорти й атеросклерозом
<i>VEGF</i>	Фактор росту ендотелію судин, специфічний мітоген, спрямований на ендотеліальні клітини, є ключовим регулятором ангиогенезу. Зменшення сумарної VEGF-активності може призводити до зменшеної активності гіпоксичного фактора HIF1	Поліморфізм -634 G/C асоційований із систолічною дисфункцією міокарда та інфарктом міокарда

Таким чином, сьогодні немає переконливого доказу тісного зв'язку між генетичним поліморфізмом і ризиком розвитку серцево-судинних захворювань, остаточно підтвердженого в індивідуальних дослідженнях і метааналізах. Отримані дані дають підставу припускати, що дослідження, виконані досі, були недостатніми для ідентифікації надійного генетичного взаємозв'язку. Варто враховувати, однак, що висновки, зроблені на підставі проведеного аналізу, базувалися на відносно нечисленних дослідженнях кож-

ного генного поліморфізму, тому їхня інтерпретація має бути зваженою [33; 34].

Беручи до уваги, що серцево-судинні захворювання є комплексною патологією з багатофакторною етіологією, слід очікувати, що навіть незначний внесок патогенетичної ролі досліджених генних поліморфізмів у певних випадках, а також у сполученні з іншими чинниками не може бути повністю виключений [35–39]. Тому взаємозв'язок між генетичними змінами й серцево-судинними захворюваннями усе

Таблиця 6.9

Дослідження найбільш важливих функціональних поліморфізмів, асоційованих із серцево-судинними захворюваннями¹ [26]

Автори	Наукова база, расова належність	Основна група (кількість чоловіків/жінок, σ), кількість діагностичних критеріїв	Контрольна група (кількість чоловіків/жінок, σ), відповість, кількість діагностичних критеріїв	Ген (поліморфізм)	Розподіл генотипів mtmt/mtwt/ wtwt	Асоціація	Порівняння	Відношення шансів	95 % ДІ	HWE ²
Raynolds et al., 1993	США, європейці	n=102 (96/6, 53,7 (0,8)), критерії: 1	n=79 (50/29, 53,7 (0,8)), ні, критерії: i	ACE (I/D)	Випадки: немає даних, контрольна група: немає даних	Так	DD або DI/II;	2,01	1,1; 3,7	Ні
Sanderson et al., 1996	Гонконг, китайці	n=53 (39/14, 64 (12,0)), критерії: 1	n=183 (106/77, 40 (12), ні, критерії: ii	ACE (I/D)	Випадки: 6/21/26, контрольна група: 24/88/71	Ні	DD або DI/II;	0,83	0,4; 1,9	Так
							DD/DI або II;	0,67	0,4; 1,2	
							DD або DI;	1,02	0,4; 2,5	
							*D або *I	0,76	0,5; 1,2	
Akbulut et al., 2003	Туреччина, турки	n=84 (68/16, 59,5 (10,4)), критерії: 2	n=125 (105/20, 57,2 (12), ні, критерії: iii	ACE (I/D)	Випадки: 6/21/26, контрольна група: 24/88/71	Ні	DD або DI/II;	0,95	0,5; 1,7	Так
							DD/DI або II;	1,04	0,5; 2,1	
							DD або DI;	0,94	0,4; 1,7	
							*D або *I	0,99	0,7; 1,5	

¹ dbSNP, База даних Single Nucleotide Polymorphisms. Bethesda, Maryland: National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (dbSNP Build ID: 126). Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>

² HWE — рівняння Харді — Вайнберга (Hardy-Weinberg equation), закон популяційної генетики: у популяції нескінченно великого розміру, в якій не діє відбір, не відбувається мутаційний процес,

відсутній обмін особинами з іншими популяціями, не виникає дрейфу генів, усі схрещення випадкові, частоти генотипів за яким-небудь геном (якщо в популяції є два алелі цього гена) підтримуватимуться постійними з покоління у покоління і відповідатимуть рівнянню $p^2 + 2pq + q^2$, де p^2 — частка гомозигот за домінантним алелем; p — частота домінантного алеля; q^2 — частка гомозигот за рецесивним алелем; q — частота рецесивного алеля; $2pq$ — частка гетерозигот.

Автори	Наукова база, расова належність	Основна група (кількість чоловіків/жінок, σ), кількість діагностичних критеріїв	Контрольна група (кількість чоловіків/жінок, σ), відповідність, кількість діагностичних критеріїв	Ген (поліморфізм)	Розподіл генотипів mtmt/mtwt/wtwt	Асоціація	Порівняння	Відношення шансів	95% ДІ	NHE
Covolo et al., 2003	Італія, європеоїди	n=107 (НД), критерії: 3	n=230 (115/115, 62,4 (7,8)), збіг віку, критерії: iii	ACE (I/D)	Випадки: 31/57/19, контрольна група: 86/105/39	Hi	DD або DI/II;	0,68	0,4; 1,2	Так
							DD/DI або II;	0,95	0,5; 1,7	
							DD або DI;	0,66	0,4; 1,1	
							*D або *I	0,83	0,6; 1,1	
Huang et al., 2004	Китай, китайці	n=26 (НД), критерії: 1	n=102 (НД), ні, критерії: ii	ACE (I/D)	Випадки: 2/14/10, контрольна група: 17/48/37	Hi	DD або DI/II;	0,40	0,1; 1,9	Так
							DD/DI або II;	0,91	0,4; 2,2	
							DD або DI;	1,05	0,4; 2,9	
							*D або *I	0,79	0,4; 1,5	
Coldbergova et al., 2003	Чехія, європеоїди	n=158 (НД), критерії: 4	n=200 (НД, 54 (НД)), ні, критерії: ii	AGT (M235T)	Випадки: 37/83/38, контрольна група: 37/100/63	Так	TT/MT або MM;	1,33	0,8; 2,1	Так
							*T або *M	1,35	1,1; 1,6	
				AGT (G-6A)	Випадки: 37/83/38, контрольна група: 37/100/63		AA/AG або GG;	0,76	0,5; 1,2	
							*A або *G	0,96	0,8; 1,1	
Small et al., 2002	США, європеоїди	n=81 (НД), критерії: 4	n=105 (НД), ні, критерії: ii	ADRA2C (Del322-325)	Випадки: 6/5/50, контрольна група: 2/4/99	Так	DelDel або wtwt/wtDel;	3,94	0,5; 31,1	Hi
							*Del або *wt	2,97	2,0; 4,4	
	США, негроїди	n=78 (НД), критерії: 4	n=84 (НД), ні, критерії: ii		Випадки: 41/14/23, контрольна група: 14/41/29	Так	DelDel або wtwt/wtDel;	5,65	2,7; 11,9	Так
							*Del або *wt	2,29	1,9; 2,7	

6. Молекулярна епідеміологія соціально значущих захворювань

	США, свропеїди	n=81 (НД), критерії: 4	n=105 (НД), ні, критерії: ii	<i>ADRB1</i> (Arg389Gly)	Випадки: 43/34/4, конт-рольна група: 63/34/8	Hi	ArgArg або GlyGly/ArgArg; *Arg або *Gly;	0,80	0,4; 1,7; 0,7; 1,1	Так
							ArgArg або GlyGly/ArgArg; *Arg або *Gly	0,90	0,4; 1,8; 0,7; 1,1	
							DelDel або wtwt/wtDel; *Del або *wt	1,0	0,4; 2,5; НД	
							ArgArg або GlyGly/ArgArg; *Arg або *Gly;	0,8	0,5; 1,2; НД	
Mitra et al., 2006	Італія, свропеїди	n=126 (НД), критерії: 4	n=230 (НД), ні, критерії: ii	<i>ADRB1</i> (Arg389Gly)	Випадки: 60/55/11, конт-рольна група: 122/90/18	Hi	ArgArg або GlyGly/ArgArg; *Arg або *Gly;	0,8	0,5; 1,2; 0,6; 1,2	Так
							ArgGly або GlyGly;	0,8	0,4; 2,1	
							ArgArg GlyGly;	0,87	1,5; 1,6	
							GlyGly/Gly або Arg ArgArg;	1,17	0,8; 1,6	
Covolo et al., 2004	Італія, свропеїди	n=130 (НД), критерії: 4	n=230 (НД), ні, критерії: ii	<i>ADRB2</i> (Gln27Glu)	Випадки: 49/56/21, конт-рольна група: 81/115/34	Hi	GlyGly або ArgArg;	1,24	0,8; 2,0	Так
							*Gly або *Arg	0,98	0,5; 1,9	
							GlyGly або ArgArg;	1,28	0,8; 1,9	
							GluGlu/GlnGlu або GlnGln;	1,13	0,8; 1,6	
				<i>ADRB2</i> (Gln27Glu)	Випадки: 16/52/58, конт-рольна група: 31/79/120	Hi	*Glu або *Gln;	0,78	1,4; 1,6	Hi

Продовження табл. 6.9

Автори	Наукова база, расова належність	Основна група (кількість чоловіків/жінок, σ), кількісність діагностичних критеріїв	Контрольна група (кількість чоловіків/жінок, σ), відповідність, кількісність діагностичних критеріїв	Ген (поліморфізм)	Розподіл генотипів mtmt/mtwt/wtwt	Асоціації	Порівняння	Відношення	95% ДІ	HWE
Covolo et al., 2004	Італія, європеоїди	n=130 (НД), критерії: 4	n=230 (НД), ні, критерії: ii	<i>ADRB2</i> (<i>Gln27Glu</i>)	Випадки: 16/52/58, контрольна група: 31/79/120	Ні	GluGlu або GlnGln;	1,1	0,5; 2,5	Ні
Lienewebert et al., 2006	Німеччина, європеоїди	n=520 (380/140; 59 (11)), критерії: 4	n=328 (216/112, 31 (11)), ні, критерії: ii	<i>ADRB2</i> (<i>Gln27Glu</i>)	Випадки: 216/215/89, контрольна група: 108/170/50	Так	GlyGly або ArgArg; *Gly або *Arg; GlyGly ArgArg	1,36 2,35 1,58	0,9; 2,0 1,3; 4,1 1,2; 2,1	Так
				<i>ADRB2</i> (<i>Gln27Glu</i>)	Випадки: 108/224/188, контрольна група: 51/162/115	Ні	GlyGly ArgArg; GluGlu/GlnGlu або GlnGln *Glu або *Gln	1,12 0,95 1,09	0,7; 1,3 0,7; 1,3 0,6; 1,9	Ні
				<i>ADRB2</i> (<i>Thr164Ile</i>)	Випадки: 0/10/510, контрольна група: 108/170/50	Ні	GluGlu або GlnGlu GluGlu або GlnGln ThrIle або ThrThr *Ile або *Thr	1,53 1,29 0,89 0,90	1,0; 2,3 0,9; 1,9 0,3; 2,4 0,7; 1,2	НД
Colombo et al., 2006	Італія, європеоїди	n=122 (НД), критерії: 2	n=216 (НД), збіг віку, критерії: ii	<i>EDNT</i> (<i>Lys198Asn</i>)	Випадки: 16/46/60, контрольна група: 7/72/114	Так	AsnAsn або LysLys AsnAsn або LysLys/LysAsn *Asn або *Lys	4,34 4,01 1,64	1,7; 11,1 1,6; 10,1 1,1; 2,4	Так

6. Молекулярна епідеміологія соціально значущих захворювань

				<i>EDNRA</i> (C697)	Випадки: 8/49/65, конт- рольна група: 15/87/114	Ні	CC або TT/CT	0,94	0,4; 2,3	Так
							*C або *T	0,98	0,7; 1,4	
Holweg et al.	Нідер- ланди, європеоїди	n=167 (156/11, 51,1 (7.6)), критерії: 4	n=216 (НД), збіг віку, критерії: ii	<i>HMOX1</i> (GT)	Випадки: 63/79/25, конт- рольна група: 64/85/20	Ні	LL/LS або SS	0,76	0,4; 1,4	Так
							*L або *S	0,93	0,7; 1,3	
Van der Meer et al., 2005	Нідерлан- ди, Велика Британія, змішані	n=417 (НД), критерії: 2	n=187 (НД), збіг віку та статі, критерії: ii	<i>VEGF</i> (G-405C)	Випадки: 55/189/173, контрольна група: 24/75/88	Так	CC/CG або GG	1,25	0,9; 1,8	Так
							*C або *G	1,32	1,0; 1,7	
Kubota, 1998	США, змішані	n=124 (НД), критерії: 4	n=139 (НД), збіг віку, критерії: ii	<i>VEGF</i> (C-460T)	Випадки: 98/57/164, контрольна група: 53/89/45	Ні	TT/CT або CC	0,87	0,6; 1,3	Так
							*T або *C	1,13	0,9; 1,4	
				<i>TNF</i> (G-308A)	Випадки: 8/57/164, контрольна група: 3/38/98	Ні	AA/AG або GG	0,95	0,6; 1,5	Так
							AA або AG/GG	1,64	0,4; 6,3	
				<i>LTA</i> (G-232A)	Випадки: 103/102/24, контрольна група: 65/58/16	Ні	*A або *G	1,00	0,74; 1,5	Так
							AA/AG або GG	1,11	0,6; 2,2	
Densem et al., 2002	Велика Британія, європеоїди	n=106 (НД), критерії: 4	n=212 (НД), ні, критерії: ii	<i>TNF</i> (G-308A)	Випадки: НД, контрольна група: НД	Ні	*A або *G	0,98	0,7; 1,4	НД
							AA/AG або GG	НД	НД	
Alikasifoglu et al., 2003	Туреччина, турки	n=63 (НД), критерії: 1	n=93 (60/33, 56,2 (9,1)), збіг віку та статі, критерії: ii	<i>TNF</i> (G-238A)	Випадки: 2/15/46, конт- рольна група: 3/22/68	Ні	*A або *G	0,95	0,5; 1,9	Так
							AA/AG або GG	0,86	0,4; 1,8	
				<i>TNF</i> (G-308A)	Випадки: 2/15/46, конт- рольна група: 3/22/68	Ні	*A або *G	1,0	0,5; 1,9	Так
							AA/AG або GG	1,24	0,6; 2,5	
						Ні	AA AG/GG	0,99	0,2; 4,6	Так
							*A або *G	1,19	0,6; 2,2	

Автори	Наукова база, расова належність	Основна група (кількість чоловіків/жінок, σ), відносна кількість діагностичних критеріїв	Контрольна група (кількість чоловіків/жінок, σ), відносна кількість діагностичних критеріїв	Ген (поліморфізм)	Розподіл генотипів mtmt/mtwt/wtwt	Асоціації	Порівняння	Відношення шансів	95% ДІ	NHE
Holweg et al., 2001	Нідерланди, європеоїди (>95 %)	n=144 (135/9, 50,8 (7,7)), критерії: 4	n=94 (49, 6,7 (10,3)), ні, критерії: vi	TGFB1 (Leu10Pro)	Випадки: 14/70/60, контрольна група: 14/43/37	Hi	ProPro/LeuPro або LeuLeu	0,91	0,5; 1,5; 0,6; 1,2	Так
							*Pro *Leu	0,85		
							ProPro/ArgPro або ArgArg	0,89	0,4; 1,8; 0,5; 2,1	
Bijlsma et al., 2001	Нідерланди, європеоїди	n=35 (НД), критерії: 4	n=29 (НД), ні, критерії: vi	IL10 (G-1082A)	Випадки: 3/18/123, контрольна група: 0/15/79	Hi	*Pro або *Arg	1,4	0,8; 3,1	НД
							*A або *G	1,54		
							*C або *A	1,16	0,6; 2,1	
Bijlsma et al., 2002	Нідерланди, європеоїди	n=35 (НД), критерії: 4	n=36 (НД), ні, критерії: vi	IL4 (C-260T)	Випадки: НД, контрольна група: НД	Hi	*T або *C	0,64	0,3; 1,3	НД
Kruger et al., 2005	Німеччина, європеоїди	n=51 (НД, 62(3,0)), критерії: 5	n=100 (НД), збіг віку та статі, критерії: ii	CD14 (C-260T)	Випадки: НД, контрольна група: НД	Hi	TT/CT або CC	0,79	0,4; 1,6; 0,4; 1,2	Так
							*T або *C	0,66		
Kolek et al., 2005	США, змішані	n=605 (НД), критерії: 5	n=605 (НД), ні, критерії: iii	AMPD (C34T)	Випадки: НД, контрольна група: НД	Hi	TT/CT або CC	0,87	0,4; 1,8	НД
Nakatani et al., 2005	Японія, японці	n=70 (НД), критерії: 6	n=433 (НД), ні, критерії: iv	SLC6A4(1D)	Випадки: НД, контрольна група: НД	Hi	TT/CT або CC	0,94	0,5; 1,9	НД
			n=2 389 (НД), ні, критерії: vii		Випадки: 47/22/1, контрольна група: 1 533/754/102	Hi	DD/DI або II	3,08	0,4; 22,4; 0,8; 1,9	Так
							*D або *I	1,23		

Примітка. НД — немає даних; ДІ — довірчий інтервал; mt — мутантний тип; wt — дикий тип.

Таблиця 6.10

Гени, поліморфізми яких були визначені як функціональні для серцево-судинних захворювань [27]

dbSNP	Ген	Локалізація у хромосомах	Базові зміни	Середня гетерозиготність (M±s)	Амінокислотні зміни	Метод визначення	Функціональний ефект
rs464994	ACE	17q23	Інтрон 16: 287 базових пар інсерцій/делецій	0,460±0,136	Hi	ПЛР: розмір фрагментів	Підвищення рівня АПФ у плазмі
rs699	AGT	1q42-43	Екзон 2: C704T	0,469±0,121	Met235Thr	RFLPs створення Asp1 сайту	Підвищення рівня АГТ
rs5051	AGT	1q42-43	Промотор: G-6A	0,304±0,244	Hi	RFLPs створення Bstn1 сайту	Вплив на активність промотора
rs2234888	ADRA2C	4p16.1	Екзон у складі 12 нуклеотидів (GGG GGGGGGGG) делеція в нуклеотиді 964	Немає даних	Позиція 322-325 делеція Gly-Ala-Gly-Pro	RFLPs створення NciI сайту	Значна втрата агоніст-опосередкованими рецепторами підвищеної функціональної активності до пресинаптичного вивільнення норadreналіну
rs1801253	ADRB1	10q24-q26	Екзон 1: G1165C	0,427±0,177	Arg389Gly	RFLPs створення BcgI сайту	Підвищення максимальної ізопротеренол-стимульованої активності аденілатциклази втричі
rs1042714	ADRB2	5q31-q32	Екзон 1: A46G	0,488±0,078	Arg16Gly	RFLPs створення BcgD1 сайту	Суперечливі дані щодо зниження експресії та про десенсибілізацію
Rs1042714	ADRB2	5q31-q32	Екзон 1: C740 T	0,368±0,221	Gln27Glu	RFLPs створення Fnu4H1 сайту	Суперечливі дані стосовно зниження експресії
rs1800888	ADRB2	5q31-q32	Екзон 1: G61T	0,007±0,059	Thr134Ile	SSOP	Сигнальні ушкодження
rs5370	EDN1	6p24.1	Екзон 5: G61T	0,346±0,231	Lys198Asn	RFLPs створення Sac81 сайту	Підвищення рівня ендотеліну в плазмі
rs5333	EDNRA	4q31.23	Екзон 6: C69T	0,464±0,129	Hi	SSOP	Немає доступних функціональних досліджень
rs361525	TNF	6p21.3	Промотор: G238A	0,127±0,218	Hi	RFLPs створення BamH1 сайту	Прискорення транскрипції

dbSNP	Ген	Локалізація у хромосомах	Базові зміни	Середня гетерозиготність (M±s)	Амінокислотні зміни	Метод визначення	Функціональний ефект
rs1800629	<i>TNF</i>	6p21.3	Промотор: G308A	0,161±0,233	Hi	RFLPs втрага NcoI сайту	Прискорення транскрипції, підвищення конститутивних та індукцибельних рівнів
rs4986978	<i>LTA</i>	6p21.3	Інtron I: G252A	0,010±0,069	Hi	RFLPs втрага NcoI сайту	Підвищення утворення цитокіну TNF-α
rs1982073	<i>TGFB1</i>	19q13	Екзон 1: T869C	0,397±0,202	Leu10Pro	SSOP	Висока продукція TGF-β1 <i>in vitro</i>
rs1800471	<i>TGFB1</i>	19q13	Екзон 1: G915C	0,112±0,209	Arg25Pro	SSOP	Висока продукція TGF-β1 <i>in vitro</i>
rs2010963	<i>VEGF</i>	6p21.3	Промотор G405C	0,460±0,136	Hi	RFLPs втрага BsmF1 сайту	Низьке утворення ендотеліального фактора росту судин
rs833061	<i>VEGF</i>	6p21.3	Промотор G460T	0,214±0,247	Hi	RFLPs втрага BsrU1 сайту	Малоймовірно
rs3074372	<i>HMOX-1</i>	27q12	Промотор (GT) _n повторів	НД	Hi	ПЛР, розмір фрагмента	Кількість повторів обернено пропорційна активності
rs1800896	<i>IL-10</i>	1q31-q32	Промотор G1082A	0,417±0,186	Hi	SSOP	Низький рівень продукції інтерлейкіну-10
rs1800872	<i>IL-10</i>	1q31-q32	Промотор C592A	0,467±0,124	Hi	SSOP	Низький рівень продукції інтерлейкіну-10
rs2243250	<i>IL-4</i>	5q31.1	Промотор C590T	0,500±0,012	Hi	SSOP	Підвищення промоторної активності
rs17602729	<i>AMPD</i>	1p13-p21	Екзон 2 C34T	0,069±0,172	Gln12-термінація	RFLPs збіг Nsp1 сайту	Значне ушкодження прогеїну, що втрачає свою каталітичну активність
rs5744455	<i>CD14</i>	5q31	Промотор C260T	0,315±0,241	Hi	SSOP	Підвищення транскрипційної активності
rs4795541	<i>SLC6A4</i>	17q11.2-q12	Промотор: 44 основні пари інсерцій/делецій	НД	Hi	ПЛР, розмір фрагментів	Підвищення транскрипційної активності

Примітка. НД — немає даних.

ще залишається нерозв'язаною проблемою. Результати проспективних досліджень типу «випадок-контроль» [40–43], що проводилися з метою вивчення міжгенних взаємодій та взаємодії генів і навколишнього середовища, зважаючи на велику кількість даних, отриманих під час генетичних і геномних досліджень [44; 45], могли б надати більше інформації про генетику серцевої недостатності і, відповідно, розширити діагностичні, лікувальні та профілактичні можливості практичної медицини.

6.2. Проблеми молекулярної епідеміології захворювань обміну речовин

Не менш соціально значущими є захворювання обміну речовин, причому для багатьох із них уже ідентифіковані, клоновані та картовані гени. Частина захворювань обміну речовин належить до вроджених порушень, спадкові властивості яких виникають у результаті мутації в генах ферментів, регуляторних білків і транспортних механізмів. Обмін речовин являє собою повний процес перетворення хімічних речовин в організмі, що забезпечують його ріст, розвиток, діяльність і життя в цілому, тобто комплекс ферментативних реакцій, за допомогою яких організм одержує енергію як для підтримки власної життєдіяльності, так і для синтезу нових молекул, у яких він відчуває потребу (вуглеводів, ліпідів і білків). Це загальне визначення приховує складну мережу біохімічних реакцій, які відбуваються у клітинах.

Порушення обміну речовин, що трапляється найчастіше, — це ожиріння, відомий фактор ризику хронічних захворювань, у тому числі захворювань серця, цукрового діабету, гіпертонії, інсульту і деяких форм раку [46; 47]. Дані досліджень свідчать, що ожиріння має полігенне походження, включаючи генетичні, екологічні, психологічні та інші фактори [48]. Зростання частоти ожиріння у всьому світі обумовлене змінами способу життя, споживання їжі, екологічними факторами, зниженням фізичної активності. Оскільки швид-

ке підвищення ожиріння відбулося протягом останніх 30–40 років, створилося помилкове враження про відсутність значущості в його етіопатогенезі генетичних механізмів. Насправді, ожиріння тісно пов'язане зі спадковими факторами. Численні сімейні дослідження, що включають дані про усиновлених дітей, близнюків і, що найцінніше, усиновлених близнюків, підтвердили, що спадкові фактори можуть бути відповідальними за 45–75 % індивідуального ожиріння [49]. Ці спадкові фактори пов'язані зі споживанням енергії, витратою енергії та розподілом поживних речовин між жировою масою та масою нежирових тканин [50].

Відкриття генів ожиріння може привести до справжнього прогресу в лікуванні ожиріння. По-перше, замісна лептин-терапія при вродженому дефіциті лептину дає ефективні результати лікування цієї рідкісної патології й ефективна щодо зниження маси тіла [51]. По-друге, генетичні дослідження можуть допомогти виявити шляхи, якими певні молекули регулюють енергетичний баланс, метаболізм інсуліну, глюкози, гормонів і ферментів, залучених в обмін речовин, і допоможуть сфокусувати напрямок досліджень для фармакологічного втручання при найбільш розповсюджених формах ожиріння. По-третє, знання молекулярних механізмів різних генетичних порушень ожиріння сприятиме поліпшенню стратегії медикаментозного лікування в майбутньому — регуляції режиму харчування, прийому медикаментів або хірургічному лікуванню. Генетичні ушкодження, виявлені нині при ожирінні, відповідальні за хибне формування почуття насичення і стосуються функції центрів контролю апетиту в мозку, а не «зниження обміну речовин» [52]. Це вказує на те, що потрібно вважати раціон харчування людини не цілком добровільно керованим явищем, а одним із процесів, керованих потужними біологічними сигналами з відносно примитивних ділянок мозку.

Однонуклеотидні поліморфізми характерні для гена проопіомеланокортину, попередника пептиду, що стимулює синтез багатьох важливих молекул, таких як ме-

ланін, адренокортикотропін — гормон, необхідний для синтезу стероїдних гормонів, та інших [53–55]. Відомі вісім потенційних рестрикційних сайтів у межах цього попередника поліпептиду залежно від типу тканини й доступних конвертаз. Процесинг може привести до формування десяти біологічно активних пептидів, залучених у різноманітні клітинні функції. Кодований білок синтезується, головним чином, у кортикотропних зонах аденогіпофіза. Мутації у цьому гені пов'язані з раннім початком ожиріння, наднирковою недостатністю та рудою пігментацією волосся.

Істотний зв'язок з ожирінням у декількох популяційних дослідженнях виявлено у ділянці хромосоми 10p12. З'ясувалося, що ген *GAD2*, який кодує глутамінову декарбоксилазу 65 — фермент, залучений у синтез гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) — тісно пов'язаний з ожирінням. Вважають, що поліморфізм в *ENPP1* гені, що кодує фосфатази, пов'язаний з ожирінням у дитинстві й інсулінорезистентністю [56]. Дослідження в інших популяціях покликані установити відтворюваність цих спостережень.

Темп відкриття генетичних асоціацій, пов'язаних з ожирінням, має змінитися з появою повногеномних досліджень взаємозв'язку. Нещодавно, використовуючи такий підхід, було ідентифіковано поліморфізм, розташований близько до гена *Insig 2*, що у гомозиготній формі збільшує схильність до ожиріння в 1,2–1,3 разу [56–58].

Сьогодні доведено безперечний вплив зовнішніх факторів на ожиріння в загальній популяції, визначено безліч молекулярних механізмів, які можуть впливати на цей стан, але невідома генетична структура чутливості до ожиріння. Тому не дивно, що досягнення в ідентифікації генів, які впливають на схильність до загальних форм ожиріння, незначні. Ще не зрозуміло, чи буде генетична структура ожиріння відповідати більше моделі «розповсюджений варіант — часта хвороба», при якій деякі відносно загальні поліморфізми чинять невеликий, але широко розповсюджені ефекти на ризик захворювання, або ж моделі «множинного рідкісного варіанта частой хвороби», де в основі генетичної чутливості

лежить безліч різних рідкісних алелей. Поліморфізми безлічі генів-кандидатів, відібраних на підставі їх відомої біологічної функції або ролі у причинній обумовленості моногенних синдромів ожиріння в людей або на моделях тварин, були вивчені в популяційних дослідженнях і дослідженнях типу «випадок-контроль», щоб визначити, чи впливають вони на ризик ожиріння [59; 60]. Варіант *Tpn64Arg* гена бета-3 адренергічних рецепторів був предметом дослідження більше 60 незалежних клінічних випробовувань і чотирьох метааналізів. Деякі дані на користь позитивного ефекту були отримані, але, переважно, в азіатській популяції. Варіант *Val103Ile* рецептора MC4R, представлений тільки у 2–3 % загальної популяції, був вивчений у зв'язку зі зменшенням ризику ожиріння, що підтвердилося проведенням метааналізом [61–62].

Багато складних ознак, спадковість яких залежить від низки генів, не є типово менделівськими. Ці неменделівські хвороби можуть залежати від декількох локусів чутливості, з варіабельною значущістю зовнішніх чинників. Виявлення головного локусу чутливості може бути ключем до подальшого розуміння патофізіології захворювання. Дослідження взаємозв'язку генетичного поліморфізму з фенотипом, що розглядають тільки один варіант або невеликий набір генетичних варіантів, можуть бути нездатними цілком демонструвати розходження між частотою алелей, які самі є важливими у розвитку центрального ожиріння. Ці мутації пов'язані з надлишковою масою й ожирінням [63–65]. До них належать синдром Коена, дефіцит лептину, дефіцит рецептора лептину, дефіцит прогормону конвертази-1, дефіцит проопіомеланокортину, мутації рецептора меланокортину-4, мутації рецептора 1 меланін-концентруючого гормону (GPR24), мутації гена *ADRB2*, мутації гена *ADRB3*, мутації генів рецепторів кортикотропін-релізінг гормону — 1 і 2 (*CRHR1-2*).

Розподіл жирової маси є головною детермінантою підвищеної захворюваності й смертності внаслідок ожиріння [66]. Як мінімум, два показники жирової маси по-

в'язані з несприятливим впливом ожиріння на стан здоров'я — кількість підшкірної жирової клітковини тулуба й кількість вісцеральної жирової маси, розташованої в черевній порожнині. Кожний із цих компонентів жиру тіла пов'язаний з різним ступенем метаболічних відхилень і незалежно один від одного пророкує несприятливі результати. Ідентифікація значущого для ожиріння генетичного поліморфізму буде першим кроком на шляху до роз'яснення біологічних механізмів, кардинально залучених у взаємодію ген-ген і ген-нарколічне середовище [67].

Оскільки спадкові генетичні фактори ожиріння центрального типу становлять менше 50 %, більшість змін фенотипу не є генетичними у буквальному значенні. Із цієї причини, здавалося б, обов'язково слід перемістити зусилля у сферу контролю потенційних зовнішніх факторів ризику при формуванні дизайну дослідження. Інші геномні дослідження свідчать про генетичне зчеплення (тенденція певних генів успадковуватися разом, оскільки вони перебувають в одній хромосомі), а також про зв'язок із фенотипами, пов'язаними з ожирінням. При проведенні повногеномного аналізу груп зчеплення між генними локусами факторів виникнення метаболічного синдрому використовували 13 ознак, які асоціюються із метаболічним синдромом, що включав три пов'язані з ожирінням фенотипні характеристики: індекс маси тіла (ІМТ), індекс талія-стегно і величина підлопаткової шкірної складки. При цьому ідентифікували QLT (quantitative trait locus — кількісне визначення локусних ознак) для фактора метаболічного синдрому на специфічній хромосомі [68; 69]. Виявлено взаємозв'язок між ІМТ й артеріальним тиском (систолічним і діастолічним) та ожирінням. У дослідженнях, проведених з позицій доказової медицини, установлені 135 різних генів-кандидатів, які були безпосередньо пов'язані з ожирінням або з фенотипами, що асоціюються з ожирінням. Ідентифіковано у цілому 18 різних генів, які показали взаємозв'язок з фенотипами ожиріння, принаймні, у п'ятьох масштабних клінічних дослідженнях [70].

Завдяки дослідженню впливу генетичних змін на обмін речовин в експериментах на лабораторних тваринах були ідентифіковані 166 генів, зміни в яких призводять до формування фенотипів, що впливають на масу тіла й розвиток ожиріння у трансгенних мишей. Установлено, що деякі види ожиріння виникають тільки через зміну раціону харчування [71]. Врешті-решт, за допомогою впливу на фермент фосфоліпазу A2 (ФЛА2) методами генної інженерії удалося зберегти нормальну масу мишей. Миші, у яких був сформований нокаут гена, відповідального за продукування ферменту, що запускає ланцюжок процесів, які збільшують кількість молекул простагландину E2 (пригнічує розщеплення жиру), порівнювалися з контрольною групою нормальних мишей. Наявність або відсутність ферменту не вплинула на апетит, тому що обидві групи тварин споживали однакову кількість жирної їжі. Однак у міру дорослішання мишей розбіжність у швидкості набуття маси ставала достовірною. Було також досліджено, чи може відсутність ФЛА2 запобігти генетично детермінованому ожирінню у мишей. Встановлено, що рівень ФЛА2 збільшувався після їжі, перешкоджаючи розщепленню жирів, і знижувався під час голодування, сприяючи розщепленню жиру. Установлено також, що рівень ФЛА2 був вищим у мишей з ожирінням [72].

Нові дослідження показують, що в регуляції процесу обміну жирів беруть участь речовини самої жирової тканини. Наприклад, ген *DNA-PK* регулює процес трансформації вуглеводів у жир. Якщо ж ген «відключений», то навіть надлишкове вживання калорій не здатне збільшити масу тіла. Як показали експерименти, миші, у яких цей ген не функціонував, мали не тільки більш низький рівень холестерину, але, що найважливіше, на 40 % менше жирових відкладень [73].

Учені, які працюють над проблемою ожиріння, виявили ще один ген — *FTO*, що також сприяє ожирінню. Ген *FTO* може мати структуру, яка визначає високу або низьку ймовірність розвитку ожиріння. З'ясувалося, що люди, які мають дві копії

гена *FTO* (приблизно 16 % населення), характеризуються високою ймовірністю розвитку ожиріння, і, напевне, не зможуть його уникнути, незважаючи на всі дієти, адже шансів поповнішати в них на 70 % більше. Більше третини всього населення мають різновид гена *FTO* з низькою ймовірністю розвитку ожиріння, а 50 % мають змішані копії гена *FTO* і ризик поповнішати для них на 30 % вищий [74].

Ген *HMG1-C* також стимулює збільшення кількості жирових клітин й утворення ліпомі — пухлини жирової тканини. Гени *FIT1* й *FIT2* контролюють нагромадження надлишкового жиру в адипоцитах. Саме гени *FIT1* й *FIT2* відповідають за утворення адипоцитів у організмі. Ген *NRXN3* також відповідальний за розвиток ожиріння та наркозалежності. Його можна назвати геном задоволення, оскільки він пов'язаний з відчуттям насичення або задоволення. Існують різні види гена *NRXN3*, але саме вид G збільшує ризик набуття маси. Мутації гена, що контролює продукцію в людському організмі гормону лептину, відповідального за обмін речовин, також призводять до постійного переїдання та, як наслідок, до ожиріння. Активація цього патологічно зміненого гена пов'язана з певними періодами в нашому житті. Так, правильне, збалансоване харчування матері у період вагітності зменшує ймовірність того, що новонароджена дитина, яка навіть має значну масу, згодом страждатиме на ожиріння [72]. Однак діти, які у підлітковому віці страждають на ожиріння, дуже ймовірно збережуть і навіть примножать надлишкову масу в дорослому віці.

Поліморфізм гена *MC-4* призводить до розвитку тяжких, практично невиліковних форм ожиріння. Оскільки такі генетичні аномалії досить розповсюджені і реєструються у 5 % людей, то доцільно до призначення медикаментозної терапії й складання дієти попередньо обстежити пацієнтів, виявляючи, чи нормально функціонує ген *MC-4*, чи ні.

Доведено, що блокування в організмі мишей гена *IKKE* запобігає не тільки набуттю зайвої маси у тварин, але й розвитку хронічних запальних процесів, пов'яза-

них з ожирінням, жировою дистрофією печінки та інсулінорезистентністю — симптомів, що ведуть до розвитку діабету 2 типу [75–77]. Ген *IKKE* відповідає за синтез кінази IKKE — ферменту, що сповільнює активність інших білкових молекул в організмі мишей, відповідальних за процеси обміну речовин. В умовах жирного харчового навантаження активність гена *IKKE* збільшується, що призводить до уповільнення обміну речовин і набуття надлишкової маси. У групі трансгенних мишей, позбавлених цього гена, уповільнення обмінних процесів при вживанні жирної їжі не відбувається, що дозволяє мишам зберігати нормальну масу тіла.

Аналізуючи результати проведених досліджень, можна зробити висновок, що ожиріння пов'язане з балансом споживання їжі й витрати енергії. Ожиріння також пов'язане зі складними генетичними змінами, які істотно змінюють обмінні процеси. Приблизно 20–30 % генетичних асоціацій є клінічно значущими і дійсно мають обмежений вплив на ризик розповсюджених захворювань обміну речовин. Повний список всіх виконаних досліджень доступний у базі даних Human Obesity Gene Map (<http://obesitygene.pbrcc.edu>). Метою подальших досліджень усе ще залишається ідентифікація реальної комбінації генів і мутацій, які пов'язані з підвищеним ризиком надлишкової маси й ожиріння, і визначення характеру взаємодії екологічних факторів із цими генами й мутаціями.

До соціально значущих розповсюджених захворювань, пов'язаних з порушенням обміну речовин, належить цукровий діабет — мультифакторна патологія, при якій організм не здатний виробити достатню кількість інсуліну. Цукровий діабет 1 типу виникає в результаті аутоімунного руйнування інсулін-продукуючих β -клітин, що означає постійну залежність пацієнта від інсулінотерапії [78]. Цукровий діабет 2 типу — метаболічне захворювання, що характеризується хронічною гіперглікемією, яка є результатом порушення секреції інсуліну або механізмів його взаємодії із клітинами тканин (ВООЗ, 1999). Цукровий діабет 2 типу, колись відомий як діабет

бет, що маніфестує частіше у дорослих, обумовлений зниженням чутливості тканин до дії інсуліну (інсулінорезистентність), виникає, якщо стан інсулінорезистентності супроводжується зниженням продукції б-клітинами інсуліну. Дієта й зниження маси тіла пацієнта в деяких випадках допомагають нормалізувати вуглеводний обмін організму й знизити синтез глюкози на рівні печінки. Однак із часом виділення інсуліну б-клітинами підшлункової залози знижується, тому необхідними є ін'єкції інсуліну. Цукровий діабет 2 типу становить 85–90 % від всіх форм діабету, здебільшого розвивається у людей після 40 років і, як правило, пов'язаний з ожирінням. Захворювання перебігає повільно. Для нього характерні другорядні симптоми, кетоацидоз виникає рідко. Із часом розвиваються ускладнення: мікро- і макроангіопатія, нефро- і нейропатія, ретинопатія та ін. [78].

Гестаційний діабет — одна із форм діабету, обумовлена станом толерантності до глюкози протягом вагітності, що звичайно зникає після пологів, але формує толерантність до глюкози як фактор подальшого ризику цукрового діабету 2 типу, оскільки вагітність служить зовнішнім стресовим чинником, що виявляє генетичну схильність до розвитку цієї патології. Цукровий діабет дорослого типу у молодих (діабет типу Mason) більше відомий як MODY-діабет (від англ. maturity onset diabetes of the young). Цей термін описує трохи схожі за перебігом форми діабету з автосомно-домінантним типом спадкування. Історично терміном MODY позначали різновид діабету, при якому захворювання виявляється в молодому віці, а перебігає м'яко, подібно «дорослому» діабету 2 типу, але найчастіше без зниження чутливості до інсуліну [79]. З поглибленням знань визначення MODY-діабету звузилося, і в новій етіологічно-обґрунтованій класифікації MODY зараховують до типів діабету, «пов'язаних із генетичним дефектом функціонування бета-клітин», із розподілом на підтипи відповідно до конкретного ураженого гена (MODY1-MODY9) [78]. MODY-діабет, що виникає в результаті хірургічних

втручань та інших хвороб, становить тільки 1–5 % випадків.

Незважаючи на позитивні результати інсулінотерапії, цукровий діабет досяг рівня епідемії і, згідно з даними ВООЗ, є однією із найістотніших загроз здоров'ю людства у XXI сторіччі. Поширеність діабету в усьому світі підвищилася до 40 % порівняно з 4,9 % у 1990 р. [78]. На цукровий діабет хворіють люди різного віку, але у 10 разів частіше після 65 років. Збільшення частоти цукрового діабету було відзначено у дітей і підлітків, у яких цукровий діабет 2 типу реєструють частіше, ніж цукровий діабет 1 типу [80]. Це підвищення частоти цукрового діабету у дітей свідчить, принаймні частково, про зростання поширеності ожиріння у цій віковій групі [78]. Передбачуваний ризик розвитку діабету для людей, народжених у 2000 р., становить 33 % для чоловіків і 39 % — для жінок [81]. У хворих на цукровий діабет значно скорочується тривалість життя, у середньому на 11 років, зокрема у чоловіків, у яких діабет діагностовано у 40 років. За оцінкою міжнародних експертів, у 2000 р. цукровий діабет зареєстровано у 151 млн людей в усьому світі, і ця кількість може збільшитися до 324 млн до 2025 р. [81].

Ускладнення цукрового діабету здебільшого є наслідком макросудинних і мікросудинних порушень, які призводять до різкого збільшення захворюваності та смертності. Наприклад, поширеність ішемічної хвороби серця у хворих на діабет у 2–14 разів вища за рівень захворюваності в аналогічних вікових групах без цукрового діабету [82]. Діабетична ретинопатія — головна причина сліпоти у хворих на цукровий діабет. У 2000 р. діабетична нефропатія становила 40 % нових випадків хронічної ниркової недостатності. Захворювання нижніх кінцівок, результат комбінації захворювання периферичних судин і нейропатії, є причиною підвищення частоти ампутацій нижніх кінцівок. Хоча поліпшення глікемічного контролю повинне знизити частоту капілярних ускладнень, епізоди тяжкої симптоматичної гіпоглікемії були втричі вище у тих, хто одержував інтенсивну терапію інсуліном [83]. Разом

із наявністю фізичних і когнітивних порушень, дорослі з цукровим діабетом мають вікозалежний рівень смертності, удвічі вищий, ніж у недіабетиків [80; 83].

Сферою інтенсивного дослідження є молекулярні та фізіологічні співвідношення між ожирінням і цукровим діабетом [84]. На користь генетичного переважання прискореного нагромадження жирової маси в період обмеженого надходження калорій свідчить запропонована гіпотеза «ощадливого генотипу» для людей, що стикаються з наслідками надмірного споживання їжі та зниженням рівня фізичної активності у розвинених країнах [85]. Відповідно до цієї гіпотези, певні гени (гени ощадливості — *thrifty genes*), що дозволяють людині ефективно використовувати обмежені харчові ресурси, в умовах достатку їжі призводять до розвитку цукрового діабету.

Ця теорія набула підтвердження у 70-х роках минулого сторіччя. W. Knowler, P. Zimmet et al. продемонстрували різке збільшення частоти цукрового діабету 2 типу серед корінного населення Північної Америки і Тихоокеанських островів в умовах урбанізації та харчового достатку. Відзначаючи асоціацію між низькою масою при народженні й збільшеною частотою цукрового діабету у майбутньому, Hales і Barker (2001) висунули гіпотезу про те, що внутрішньоутробне порушення живлення призводить до зниження маси при народженні й подальших змін, які спричиняють метаболічний синдром [86]. Гіпотеза «ощадливого фенотипу» припускає також, що ембріональна гіпотрофія призводить до порушення розвитку β -клітин підшлункової залози й інсулінорезистентності. Потомство виявляється більш схильним до цукрового діабету та метаболічного синдрому в умовах надмірного харчового навантаження в дорослому віці. Отже, збільшена поширеність цукрового діабету 2 типу у потомства матерів із цукровим діабетом може бути наслідком «внутрішньоутробних факторів зовнішнього середовища», що проявляються на тлі генетичної схильності.

Епідеміологічні дослідження підтвердили ці спостереження, проте досі фактично нічого не відомо про механізми реалізації

факторів ризику на пренатальному та постнатальному етапах, що також є сферою активних досліджень [27]. Якби взаємовідношення між ожирінням і цукровим діабетом були з'ясовані остаточно, то патогенетична терапія, спрямована на ці механізми, могла б скоротити частоту виникнення цукрового діабету.

Взаємозв'язок між ожирінням і діабетом був вивчений в експерименті у інбредних мишей. У всіх тварин, які одержували дієту з високим вмістом жирів, розвивулася інсулінорезистентність, однак тільки у половини виникли ожиріння і цукровий діабет. Цікаво, що у 10 % мишей цукровий діабет перебігав без ожиріння, а в 10 % випадків виникало ожиріння без цукрового діабету. Механізми, які відповідають за дані фенотипи, не можна зарахувати тільки до генетичних [28]. Отримані результати сумісні з гіпотезою про те, що епігенетичні зміни та стохастичні фактори роблять свій внесок у фенотипну розмаїтість [87].

Пізніші дослідження показали, що ЕПР-стрес (Endoplasmic reticulum stress, стрес ендоплазматичного ретикулума — одного з основних органелів кожної еукаріотичної клітини, місця синтезу ліпідів, фолдингу та дозрівання білків) може бути причиною інсулінорезистентності та цукрового діабету, асоційованого з ожирінням в експериментальних моделях [88]. Процес починається з надходження амінокислотних ланцюгів з рибосом, які закріплені на стінках ретикулума, у його внутрішньому просторі, де синтезовані білки за допомогою спеціальних білків (шаперонів) складаються в певні структури (рис. 6.2).

При нагромадженні занадто великої кількості амінокислотних ланцюжків у середині ретикулума або при яких-небудь інших негараздах відбуваються серйозні порушення у функціонуванні системи, що може призвести до загибелі клітини. Для запобігання цьому ендоплазматичний ретикулум посилає сигнал небезпеки, який фахівці називають відгуком неструктурованих білків (*unfolded protein response* — UPR). Це сповільнює процес синтезу й надає ретикулуму можливість позбутися надлишку амінокислотних ланцюжків. Якщо

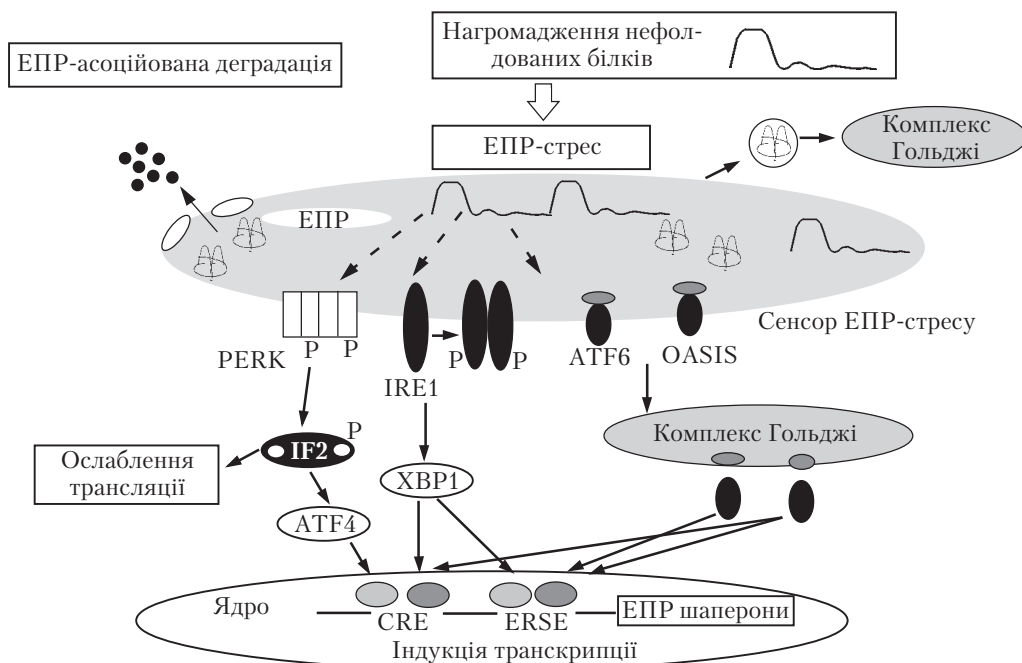


Рис. 6.2. Схема генотоксичного впливу ЕПР-стресу [55]

ж механізм не спрацьовує, запускається процес самознищення клітини — апоптоз. Білки плазмової мембрани (секретовані білки), так само як і білки апарату Гольджі та лізосом, трансформуються в їхню третинну та четвертинну структуру в ендоплазматичному ретикулумі — головний сигнал-перетворювальний органелі, що визначає відповідь на зміни гомеостазу. Стан, що інтерферує з функцією ендоплазматичного ретикулума, називають ЕПР-стресом. Якщо ЕПР-стрес супроводжується нагромадженням розгорнутих білкових агрегатів (unfolded protein response — UPR) або надмірним трафіком протеїнів, то цей стан звичайно спричиняється вірусною інфекцією (відповідь на перенавантаження ендоплазматичного ретикулума — ER overload response, EOR).

Встановлено, що ступінь ЕПР-стресу змінюється в мишей (генетично ідентичні тварини певних ліній), і це, можливо, могло б пояснити й фенотипні відмінності, які у них виникають. Традиційно вважалося, що роль ендоплазматичного ретикулула

полягає винятково у структуруванні й модифікуванні білків, однак виявилось, що він також здатний рееструвати зміну рівнів вмісту в клітині глюкози, кисню та інших речовин, а також низки змін, які асоціюються з такими захворюваннями, як діабет і хвороба Альцгеймера.

ЕПР-стрес може також спричинятися різними патофізіологічними станами типу рецесивно-спадкових генетичних захворювань, які виникають через мутації «втрати функції» або мутації відгуку неструктурованих білків. Щоб визначити терапевтичні стратегії для цих захворювань, необхідне подальше вивчення ЕПР-стресу та його впливу на організм у цілому.

Недавнє зростання поширеності ожиріння та цукрового діабету значною мірою має корелювати зі змінами негенетичних факторів ризику. Однак екологічні аспекти можуть прискорити розвиток захворювання у тих, у кого виявлена генетична схильність до цукрового діабету. Нині є нагальна потреба обґрунтувати генетичні механізми регулювання харчування та

зміни енергетичного балансу у різних людей. В остаточному підсумку, може бути вигідніше розробляти методики лікування, засновані на молекулярно-генетичних механізмах, ніж покладатися на зміну способу життя. Крім того, різні аспекти навколишнього середовища можуть мати відмінний вплив у різних популяціях. Так, у переважної більшості людей з ожирінням рееструють інсулінорезистентність, але тільки у 5–10 % із них розвивається цукровий діабет. Виявлення генетичних факторів ризику цукрового діабету матиме багато позитивних наслідків з огляду на весь спектр ускладнень захворювання, вплив на тривалість та якість життя хворих на діабет.

Спадковий характер цукрового діабету 1 і 2 типу підтверджується численними даними. Ризик розвитку цукрового діабету 1 типу у sibсів становить 5–10 %, що в 12–100 разів більше, ніж ризик у загальній популяції (0,1–0,4 %) [89]. Дослідження монозиготних близнюків показали, що конкордантність цукрового діабету 1 типу у них більша, ніж у дизиготних близнюків [36]. Для цукрового діабету 2 типу імовірність серед монозиготних близнюків була на 50–92 %, вищою, ніж у близнюків дизиготних — 37 %. Проте ступінь відносного ризику генетичного внеску для рідного брата значно більший для цукрового діабету 1 типу, конкордантність й абсолютний ризик істотно вищі для діабету 2 типу, що, можливо, підкреслює важливість екологічної складової ризику для цієї форми захворювання [89].

Кількісний фенотип гомеостазу глюкози також пов'язують зі спадковими властивостями. У родинах із підвищеною генетичною схильністю до цукрового діабету 2 типу спадковість стосується функції б-клітин у 72 % випадків і синдрому інсулінорезистентності — в 78 % випадків. Спадковість інших фенотипних ознак, таких як ІМТ, артеріальний тиск, сироваткові рівні ліпідів, також належать до синдромів з підвищеною генетичною схильністю [90].

Результати останніх досліджень свідчать про взаємозв'язки генетичних фак-

торів з цукровим діабетом. Найбільш вдалі результати генотипування, позиційного клонування і дослідження генів-кандидатів були отримані при аналізі форм діабету із простою генетичною моделлю. Ранні дослідження характеризували діабет як стан, що виникає в результаті мутації генів рецепторів до інсуліну (*INS*) і мітохондріального геному, що дозволило скласти уявлення про гомеостаз глюкози, але саме *MODY* надав класичний приклад успішного застосування генетики для дослідження цукрового діабету [91]. Дослідження карти зчеплення генетичних ознак *MODY* були досить успішними і після декількох років вивчення позиційного клонування та генів-кандидатів сприяли ідентифікації генів глюкокінази (*GCK*) і гепатоцелюлярного ядерного фактора 4b і 1b (*HNF4A*, *TCF1*), одиничні мутації в яких можуть призвести до складного метаболічного фенотипу цукрового діабету [91].

Генетичні дослідження цукрового діабету дозволили дійти висновку, що гомеостаз глюкози є результатом балансу між продукцією інсуліну, обумовленого масою або функцією б-клітин, і дією інсуліну. Деякі гени, здатні впливати на ці процеси, наведено у табл. 6.11 [92].

Діабет виникає в результаті нестійкості між інсулінопродукуючими можливостями б-клітин острівців Лангерганса й потребами в інсуліні в органах-мішенях — печінці, жировій тканині, скелетній мускулатурі. Деякі з досліджених генів, що продемонстрували можливу участь у дисбалансі глюкози, показані на рис. 6.3.

Дані генетичних досліджень цукрового діабету типу 1 і 2 досить неоднозначні, адже цукровий діабет 1 типу унікальний серед комплексних захворювань за величиною сімейного ризику у співвідношенні з одиничним локусом *HLA*. З того часу, як *HLA* був спочатку задіяний у дослідженні взаємозв'язку цукрового діабету, як регіон генів-кандидатів, функціональна значущість *HLA* для цукрового діабету 1 типу є більшою, ніж для будь-якого іншого комплексного захворювання, хоча деякі інші аутоімунні захворювання також мають підтвердження зв'язку з регіоном *HLA* [92].

Деякі відомі гени, для яких установлений взаємозв'язок із цукровим діабетом [92]

Тип	Ген	Назва гена	Функція	SNP, алель або маркер
MODY 1	<i>HNF4A</i>	Гепатоцитарний ядерний фактор 4a	Транскрипційний фактор	Мутації у 13 поколіннях
MODY 2	<i>GCK</i>	Глюкокіназа	Метаболізм глюкози	Описано 130 різних мутацій
MODY 3	<i>TCF1</i>	Гепатоцитарний ядерний фактор 1a	Транскрипційний фактор	Описано 120 різних мутацій у всіх расових етнічних групах
MODY 4	<i>IPF1</i>	Інсуліновий промоторний фактор 1	Транскрипційний фактор	Рідкісна мутація; описана в 1-му поколінні
MODY 5	<i>TCF2</i>	Гепатоцитарний ядерний фактор b	Транскрипційний фактор	Рідкісна мутація
MODY 6	<i>NEUROD1</i>	Фактор нейрогенного диференціювання 1	Транскрипційний фактор	Мутація описана в двох поколіннях з автосомно-домінантним типом успадкування
T1D	<i>HLA</i>	Лейкоцитарний антиген людини	Регулювання імунної системи	Розбіжності в декількох генах
T1D	<i>INS</i>	Інсулін	Участь у численних аспектах метаболізму	VNIR
T1D	<i>CTLA4</i>	Асоційований білок 4 цитотоксичного Т-лімфоцита	Регулювання імунної системи	T17A
T1D	<i>PTPN22</i>	Білок тирозин фосфатази; безрецепторний тип 22	Регулювання імунної системи	SNP C1858T
T2D	<i>ABCC8</i>	АТФ-азні переносники; підсімейство C; рецептори сульфонілсечовини	Регуляція калієвих каналів і вивільнення інсуліну	SNPs у різних екзонах
T2D	<i>CAPN10</i>	Кальпаїн 10	Протеаза	Різні інтронні SNP гаплотипи
T2D	<i>GCGR</i>	Рецептори глюкагону	Контролює продукцію печінкової глюкози та секрецію інсуліну	G40S
T2D	<i>KCNJ11</i>	Внутрішній очисник калієвого каналу, підсімейство J, 11-й член	Регуляція секреції інсуліну	E23K
T2D	<i>PPARG</i>	g-Рецептори, що активують проліферацію пероксисом	Транскрипційний фактор	P12A
T2D	<i>HNF4A</i>	Гепатоцитарний ядерний фактор 4a	Транскрипційний фактор	P2 промотор SNP
T2D	<i>SLC2A1</i>	Glut 1	Переносник глюкози	Сайт рестрикції bal(-)

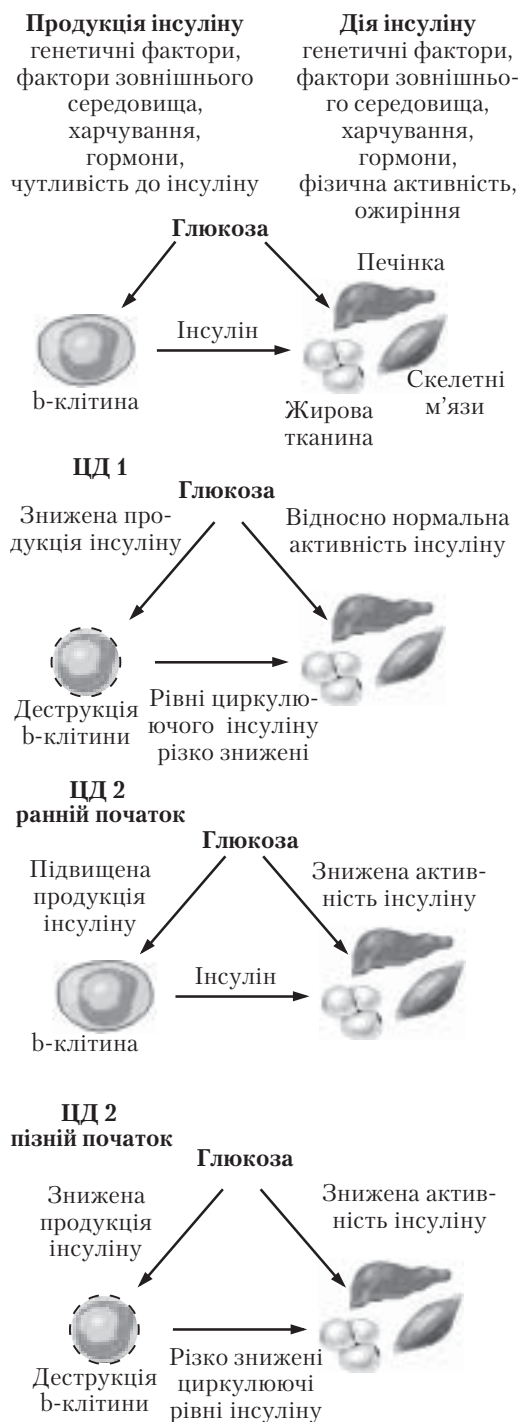


Рис. 6.3. Генетичний контроль гомеостазу глюкози [72]

Підтвердження генотипування в «не-*HLA*» локусах, залучених у патогенез цукрового діабету 1 типу, було неоднозначним. Наприклад, загальний клас алеля у варіабельному числі *INS* тандемних повторів (*VNTR*) значно трансмітований від батьків, гетерозиготних за цим алелем, до потомства, що захворіло на цукровий діабет 1 типу [92]. Не підтверджено зв'язок цукрового діабету 1 типу для ділянки *INS* у 100 сімейних дослідженнях ASP (affected sibling pair — родичів першого ступеня споріднення), одержано лише слабе підтвердження у більш ніж 200 родинах [90]. У більшому дослідженні (767 родин), включаючи родини ASP зі США та Великої Британії, було встановлене значення зв'язку з регіоном *INS* [60]. Також отримані попередні дані для *CTLA4*, що є ще одним регіоном чутливості до цукрового діабету 1 типу. Це встановлено у результаті дослідження асоціації як в індивідуальних зразках, так і більш масштабних дослідженнях [92]. Нарешті, для локусу *PTPN22* недавно встановлено ділянку генів-кандидатів для цукрового діабету 1 типу, ревматоїдного артриту і системного червоного вовчака [93], виявлені докази належності їх до цукрового діабету 1 типу у відносно великих групах досліджень.

Успіх визначення карти зчеплення генетичних локусів для цукрового діабету 2 типу, як і при інших комплексних ознаках, виявився досить незначним. Понад 25 повногеномних скринінгів були проведені за зразками, зібраними в усіх країнах світу [89]. Незважаючи на численність досліджень, виявлено тільки кілька регіонів з відтворюваними результатами взаємозв'язку: 1q, 3q, 8p, 10q, 12q, і 20q. Проте навіть у цих регіонах підтвердження зв'язку далеке від абсолютного — лише 3–7 із більш ніж 25 досліджень відтворюють аналогічні дані, отже, малоймовірно, що всі дослідження взаємозв'язку в даній галузі відбивають внесок однакових генів чутливості.

Комплексний характер патологічної генетичної моделі є фактором, що пояснює відносні невдачі у визначенні карти зчеплення генетичних ознак щодо локалізації генів чутливості для цукрового діабету

навіть у великих, об'єднаних наборах даних. Дослідники, напевно, недооцінили кількість різних генетичних факторів ризику для обох типів захворювання й занадто завищили величину ефекту, що міг би очікуватися для будь-яких із цих місць, за винятком, можливо, *HLA* для цукрового діабету 1 типу. Можна було б стверджувати, що початковий успіх визначення *HLA*, першого гена чутливості до цукрового діабету 1 типу, пов'язаного з комплексною ознакою, стимулював нереалістичні очікування оцінки генетичних факторів ризику для цукрового діабету та інших комплексних захворювань. Серед труднощів створення генетичних моделей для комплексних ознак, які, імовірно, роблять свій внесок у складність при картуванні генів, суттєвими є міжгенні взаємодії й взаємодії генів і навколишнього середовища. Такі взаємодії важкі для акомодатії у первинному генотипуванні, та все ж таки є необхідною складовою визначення схильності до комплексних захворювань. Незрозуміло, чи можна ці проблеми розв'язати, збільшуючи стандартні розміри вибірок або кількість досліджених фенотипів. Зокрема, невдачі адекватної оцінки складу й впливу негенетичних факторів ризику цукрового діабету, імовірно, знижують можливість успішного визначення генетичних факторів ризику.

З цих причин дослідники вдалися до істотних змін підходу до вивчення епідеміології цукрового діабету, використовуючи генетичні інструменти. Діагностика діабету розроблена на клінічних результатах вивчення рівнів глюкози крові, а не на основі генетичної відповідальності за це дуже складне порушення обміну речовин. Простий дихотомічний діагноз маскує величезна кількість клінічної різноманітності, і очевидно, що генетична різноманітність діабету є, принаймні, настільки ж обтяженою, як і клінічна різноманітність. Таким чином, зусилля визначення більш генетично гомогенних зразків відповідно до клінічних особливостей могли б також виявитися плідними. Наприклад, вибір для генотипування родин із цукровим діабетом 1 типу відповідно до позитивних результатів визначення антитіл або пацієнтів із цукровим

діабетом 2 типу за ІМТ міг би привести до більш послідовних і відновлюваних результатів. Додатковий аналіз кількісних ознак, які можуть бути пов'язані з цукровим діабетом 2 типу, типом інсулінорезистентності, клітинною масою β -клітин, ІМТ та іншими особливостями метаболічного синдрому може сприяти ідентифікації генів, що вносять вклад у ризик цукрового діабету [86].

Деякі із розповсюджених факторів ризику мають такий незначний внесок, що їх досить важко виявити при генотипуванні. Наприклад, алель *PPARG*, що збільшує ризик цукрового діабету 2 типу, має частоту 0,85–0,95 у більшості популяцій і пов'язаний з вельми малим збільшенням ризику. Також найвища частота алелей класу 1 (або поліморфізми в порушенні рівноваги зв'язку з ними), що підвищують ризик для цукрового діабету 1 типу в *INS VNTR*, виявлена в популяціях європейського й азіатського регіонів (0,70–0,85), але вони збільшують ризик незначно [92]. Є більш рідкісні поліморфізми амінокислот, які були тісно пов'язані з діабетом. Наприклад, алель, що збільшує ризик цукрового діабету 2 типу у поліморфізмі T504A в *CAPN10*, трапляється з частотою від 0,04 до 0,16 [70], а алель, що збільшує ризик цукрового діабету 1 типу у поліморфізмі R620W у діапазонах *PTPN22*, — з частотою від 0,08 до 0,14 [69]. Проте більшість з ідентифікованих поліморфізмів, пов'язаних зі збільшеним ризиком цукрового діабету, не належать до поліморфізмів амінокислот. Зміни в *CTLA4*, виявлені при цукровому діабеті 1 типу, можуть бути пов'язані з порушенням сплайсингу [71], тимчасом як зміни в *INS VNTR* [69], *CAPN10* [72] і *HNF4A* [73; 74] можуть стосуватися експресії генів. Картування генів, навіть при дуже великих розмірах вибірки, минає багато з цих факторів ризику, а картування асоціації усього геному, зосереджене винятково на загальному гаплотипі, минає чимало більш рідкісних факторів ризику. Стратегії, що планують відомі поліморфізми амінокислот, не враховують рідкісні, невідомі варіанти чутливості й, можливо, не виявлять ефекти більш загальних неко-

дуючих поліморфізмів. Поки не стане зрозумілим, чи переважає спектр частоти або тип поліморфізму в генетичній зміні, що стосується схильності до діабету (тип 1 або 2), доводиться прийняти як робочі стратегії, які дозволяють виявляти алелі чутливості із широким діапазоном частот й ефектів. Деякі відомі гени, асоційовані або пов'язані з цукровим діабетом, перераховані в табл. 6.11 [92].

Кожний несинонімічний одиничний поліморфізм, що кодує нуклеотиди (SNP) серед генів-кандидатів, повинен бути перевірений на можливий внесок у чутливість до хвороби. У двох нещодавніх дослідженнях на перший план висунуто важливість вивчення взаємозв'язку з маркерами в потенційних регулювальних ділянках. Більш ранні дослідження поліморфізмів у ділянці гена *HNF4A*, видозміну якого попередньо виявлено в рідких випадках MODY [77], не встановили стійкої асоціації з цукровим діабетом 2 типу [78]. Пізніше було виявлено, що в ділянці гена на 40 kb вище існує другий промотор [79; 80]. Поліморфізми в ділянці цього промотора *HNF4A* та в інших частинах некодуючої послідовності були пов'язані з цукровим діабетом 2 типу у євреїв ашкеназі [74] і в мешканців Фінляндії [73]. Результати подальших досліджень в інших популяціях можуть підтвердити асоціації між цукровим діабетом та поліморфізмами *HNF4A* в його регулювальних ділянках [81]. Не буде також дивно, якщо інші дослідження в навіть більших вибірках не визначать асоціації між цими ж поліморфізмами та цукровим діабетом. Природа регуляторної варіабельності фактично детермінує такий стан речей, коли ефекти, які належать до одного поліморфізму, можуть бути скомпенсовані (знижені) ефектами іншого поліморфізму. Таким чином, сукупні ефекти регулювальних варіантів важко передбачувати за остаточними ефектами, притаманними будь-якому індивідуальному варіанту.

Використання геномних інструментів молекулярної епідеміології надає можливість ідентифікувати групи ризику, класифікувати підтипи захворювань, забезпечити вибір оптимальної терапії, заснованої

на більш точному діагнозі [82], точніше окреслити екологічні фактори, які роблять свій внесок у початок і прогресію хвороби та її ускладнень, і проводити моніторинг результатів лікування [83; 84]. Отримана генетична інформація була застосована у рандомізованому перехресному дослідженні гліклазиду, що впливає на секрецію інсуліну, і метформіну, який збільшує дію інсуліну. Порівняно з пацієнтами з типовим цукровим діабетом 2 типу, хворі на цукровий діабет, викликаний специфічною мутацією MODY в *TCF1* [85], мали в 4–5 разів більшу відповідь на гліклазид, ніж на метформін. Іншим прикладом може служити виявлення гетерозиготних мутацій в АТФ-чутливій субодиниці каналу іонів калію гена *KIR6.2* у 7 з 11 пацієнтів з діабетом [86]. Цей ген відіграє ключову роль у секреції інсуліну під впливом глюкози. Кільком пацієнтам, які попередньо мали потребу в ін'єкціях інсуліну, була скасована інсулінотерапія й призначене пероральне лікування, що ще раз ілюструє ефективність фармакогенетики для лікування деяких хворих на цукровий діабет.

Наразі проводиться велика кількість клінічних випробувань стосовно цукрового діабету. Генетичний консорціум з генетики діабету 1 типу (Type 1 Diabetes Genetics Consortium (<http://www.D1Tgc.org>)) концентрує міжнародні зусилля для ідентифікування генів-кандидатів цукрового діабету 1 типу шляхом обстеження 2500 нових родин із двома або більше захворілими рідними братами й сестрами. Підходи до лікування цукрового діабету 2 типу у молоді оцінює дослідження TODAY (<http://www.TODAYstudy.org>), що планує зареєструвати близько 750 дітей і підлітків з нещодавно діагнованим цукровим діабетом 2 типу. Учасники дослідження орієнтовані на групи лікування, які націлені на зменшення маси тіла й збільшення фізичної діяльності. Дослідницька група Look AHEAD (Action for Health in Diabetes) представляє мультицентрове, рандомізоване клінічне випробування, що вивчає наслідки впливу способу життя, зробленого для досягнення й підтримки оптимальної маси шляхом

зменшеного споживання калорій і збільшення фізичного навантаження у 5000 хворих на цукровий діабет 2 типу й ожиріння. Ці дослідження надають ідеальні можливості для застосування ДНК-діагностичних тестів та оцінки варіабельності ефектів лікування.

Хоча дослідження типу «випадок-контроль» пропонують багато можливостей для оцінки взаємодій між генами й екологічними факторами, Френсіс Колінз зазначив, що клінічно діагностовані випадки можуть стосуватися тільки людей із серйозними проявами захворювання, а найбільші труднощі полягають у доборі групи контролю [87]. Щоб точніше визначати кількість генетичного внеску й популяційного ризику, він запропонував проводити проспективне популяційне когортне дослідження [88]. Передбачуване дослідження 200 000 чоловік, імовірно, привело б до більш ніж 5000 випадків діабету, що впливає з поточного епідеміологічного патерну з урахуванням особливостей метаболічного синдрому, типу ожиріння, гіперінсулінемії, дисліпідемії, гіпертонії і серцево-судинних захворювань. Ця популяція, вивчена за допомогою масових скринінгових методів генотипування з низькою собівартістю, могла б становити головний ресурс для спільної роботи вчених і клініцистів, прискорити об'єднання генетики з клінічною медициною.

6.3. Молекулярний аналіз й епідеміологія нейродегенеративних захворювань

Деякі захворювання, які безпосередньо стосуються нервової системи, містять генетичний компонент: частина з них через мутацію в одному гені, інші мають більш складний характер спадкування. Оскільки наше розуміння патогенезу нейродегенеративних захворювань поглиблюється, виявляються загальні ознаки: хвороба Альцгеймера і хвороба Паркінсона містять, при-

наймні, один загальний компонент, а хвороба Гентінгтона, синдром фрагільної Х-хромосоми та спінально-церебелярна атрофія — це захворювання, пов'язані з «динамічними мутаціями», що характеризуються експансією повторів ДНК. Апоптоз є одним із молекулярних механізмів кількох нейродегенеративних хвороб, інший механізм — певні порушення внутрішньоклітинної передачі сигналів.

Хвороба Альцгеймера посідає четверте місце серед провідних причин смерті в людей похилого віку [93; 94]. Частота її різко підвищується з віком, удвічі частіше вона трапляється у жінок, ніж у чоловіків. Деякі з найбільш частих ознак хвороби включають прогресивну нездатність запам'ятовувати факти і події, пізніше — пізнавати близьких і друзів. Захворювання має тенденцію передаватися спадково. Вважається, що мутації у чотирьох генах, розташованих на хромосомах 1, 14, 19, і 21, відіграють ключову роль у розвитку хвороби [94]. Найбільш вивчені ген *PS1* (або *AD3*) на 14-й хромосомі та *PS2* (або *AD4*) на 1-й хромосомі. Формування ушкоджень фрагментованих мозкових клітин, оточених амілоїдними білками, характерне для хвороби Альцгеймера. Цікаво, що ці ушкодження та пов'язані з ними білки подібні до структур, знайдених при синдромі Дауна [95].

Сьогодні вчені вивчають взаємозв'язок між різними локусами генів (особливо мутація на хромосомі 21) і те, яким чином зовнішні фактори могли сприяти чутливості людини до хвороби Альцгеймера. Використання моделі цієї хвороби в мишей сприяло ідентифікуванню ферменту, що може бути відповідальним за збільшення амілоїдної складової розвитку хвороби Альцгеймера. При наявності способів регулювання цього ферменту можна було б домогтися уповільнення або припинення захворювання у деяких людей [94].

Асоціація зі спадковістю була визнана значущою особливістю багатьох нейродегенеративних захворювань ще за кілька десятиліть до того, як їх основні молекулярні, генетичні або біохімічні властивості були відкриті. Це були часто ідентифіковані мутації певних генів, які тепер вважають го-

ловними у патогенезі цих захворювань. Вони включають мутації в білку-попереднику b-амілоїдного білка, що спричиняє хворобу Альцгеймера; в а-синуклеїні, що викликає хворобу Паркінсона, або у зв'язаному з мікроканальцями білку тау, що викликає фронтотемпоральну деменцію (FTD) з паркінсонізмом. Інша особливість, яка спостерігається в більшості загальних нейродегенеративних захворювань, — дихотомія між сімейними (рідкісними) і, очевидно, несімейними (розповсюдженими) формами. Останні також часто описуються як «спорадичні» або «ідіопатичні», хоча деякі дослідники припускають, що більша частина цих випадків також значно детермінована генетичними факторами. Ці гени ризику, імовірно, будуть численними, вони показуватимуть складні види взаємодії їх як один з одним, так і з негенетичними чинниками.

Популярною концепцією щодо генетичної складової мультифакторних захворювань є гіпотеза «часта хвороба — розповсюджений варіант» [96]. Відповідно до цієї теорії, розповсюджені порушення також керують розповсюджені варіації ДНК (SNP). Ці варіанти значно збільшують ризик хвороби, але недостатні, щоб фактично викликати певне порушення. Існуючі емпіричні й теоретичні дані підтримують цю гіпотезу, хоча залишається непевність щодо кількості основних факторів ризику й визначення розмірів їхнього ефекту.

Слід зазначити, що навіть недавні генетичні припущення в дослідженні мультифакторних хвороб типу хвороби Альцгеймера або цукрового діабету, імовірно, є тільки вкрай очевидними, надзвичайними випадками основного спектра ризику. Для хвороби Альцгеймера, наприклад, рідкісні, повністю пенетрантні автосомні домінантні мутації у 3 генах (*APP*, *PSEN1* і *PSEN2*) достатні для виникнення захворювання, тимчасом як розповсюджений, не повністю пенетрантний варіант чутливості (e4 в *APOE*) значно збільшує ризик захворювання. Ідентифікація цих генів раніше в дослідженні генетики хвороби Альцгеймера була можлива через комбінацію декількох сприятливих обставин, таких як при-

сутність багаторазових незалежних мутацій у тому ж місці розташування й придатності розширених, мультигенеративних родоводів для ДНК-генотипування та секвенування, як у разі *PSEN1*, або великої фракції, що належить до повного генетичного розходження, впливаючи з відносно високою частотою алеля та розміром ефекту, як у випадку *APOE*. Однак ідентифікація генів захворювання, які мають менші внески в генетичний спектр (через тільки деякі мутаційні події; наприклад, *PSEN2*) або фактори ризику з меншими розмірами ефекту (тобто OR_s від 2 до 3), потребуватимуть набагато більших обсягів вибірки зразків. Можливо, більш чутливі й ефективні аналітичні інструменти дозволять послідовне виявлення їх у перехресних популяційних дослідженнях [95].

На рис. 6.4 зображено відхилення спектра ризику розповсюджених захворювань, як один континуум, на прикладі хвороби Альцгеймера. Континуум простягається від звичайнісенської генетичної форми («менделівські гени») до випадків, що виникають під впливом генетичних факторів чутливості («генетичні фактори ризику») та до досягнення менш чіткої групи випадків, які можуть бути викликані генами з меншою пенетрантністю («негенетичні фактори ризику»). Встановлені менделівські гени (*APP*, *PSEN1*, і *PSEN2*) або генетичні фактори ризику (*APOE-b 4*) представлені заштрихованими блоками і показують найбільш ймовірних генів-кандидатів хвороби Альцгеймера. Ширина цих блоків приблизно відповідає відносному внеску у повний ризик захворювання. Чорні блоки вказують на невстановлені причини (гени ризику) хвороби (b4 в *APOE*). Стрілки показують можливі типи взаємодії («ген-ген» й «ген-навоколишнє середовище»), тонкі стрілки представляють попередньо запропонований тип взаємодії (наприклад, між *PSEN1* й *APOE-b 4*). Деякі взаємодії (товсті стрілки), так само як і кількість невстановлених генів, є повністю гіпотетичними й зображені тільки з дидактичною метою.

Проблеми, що найчастіше обговорюються при детекції генів мультифакторних

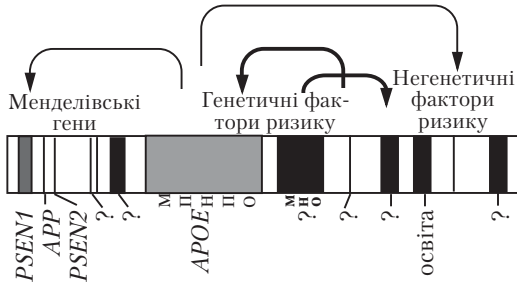


Рис. 6.4. Схема спектра генетичного ризику поширених захворювань [95]

хвороб, — це, поза всяким сумнівом, багаторазове тестування, розбіжності в публікаціях і сумнівна відтворюваність [97; 98]. Багаторазове випробування може належати до більшої категорії «псевдопозитивних» даних, які також отримані в результаті недостатньо якісного дослідження зразків, в тому числі обумовленого невідповідністю дослідної та контрольної груп, перехресних популяцій, вибору неадекватних стратегій аналізу тощо. Суб'єктивізм у трактуванні результатів дослід-

ження веде до того, що публікуються переважно роботи, в яких підтверджується первинна гіпотеза, тимчасом як дослідження з негативними результатами наводяться значно рідше [99–102]. Наявні публікації з генетики хвороби Альцгеймера у 67 % випадків представляють «негативні» дані, а решта, з «позитивними» результатами або такими, що «наводять на роздуми», навряд чи є досить переконливими [103]. Нарешті, незалежна відповідь позитивного генетичного виявлення — одна з істотних вимог, щоб відрізнити справжній генний ефект від псевдопозитивного (рис. 6.5).

Проте на первинне виявлення асоціації хвороби впливає безліч причин, які включають різноманітність місця розташування, незначний розмір ефекту, високий ризик частоти алеля, популяційну стратифікацію і слабку відповідність досліджень типу «випадок-контроль». Таким чином, шанси забезпечити незалежний результат є мізерними, якщо дослідження асоціації не було ретельно розроблене. Існує чимало суперечливих повідомлень. Якісний метааналіз



Рис. 6.5. Схема визначення доказового рівня генетичних асоціацій (генотип-фенотип) [35]

усіх оприлюднених досліджень та/або свідчень біохімічного й функціонального результату передбачуваного алеля ризику може допомогти відрізнити реальні гени захворювання від їхніх безпечних копій.

Нинішні стратегії генотипування покликані ідентифікувати нові гени захворювань та поліморфізми, які сприяють виникненню захворювання. Гени-кандидати слід обирати на підставі генетичних даних зв'язку та/або відомих гіпотетично, згідно з патофізіологічними закономірностями механізму розвитку хвороби. Ця процедура згадується як «добір генів-кандидатів». Альтернативна стратегія заснована на виявленні раніше невідомих генів/білків згідно з генетичними даними транскрипції та згадується як «позиційне клонування». Пунктирні лінії вказують найбільш короткий шлях можливості визначення нового гена захворювання, заснований на генетичному підтвердженні, наприклад, *APOE-b4* для хвороби Альцгеймера, для якого точні функціональні наслідки залишаються невідомими, незважаючи на встановлену генетичну роль. Слід відмітити, що є приклади генів/мутацій зі зниженою пенетрантністю або незначними ефектами ризику у межах імовірних генів захворювань (наприклад, певні мутації в *PSEN1* для хвороби Альцгеймера).

Незважаючи на всі труднощі, генетичні дослідження створили підґрунтя для розуміння розмаїтості механізмів захворювання, що призводять до нейродегенеративних процесів і пов'язаних з ними ознак. Аналогічно детальне розуміння їх генетичного механізму буде істотним для розвитку ефективних стратегій, націлених на ранній прогноз і раннє запобігання й лікування цих деструктивних захворювань.

Хвороба Альцгеймера — одна з найсерйозніших медичних проблем в індустріальному світі. Це небезпечне й прогресуюче нейродегенеративне захворювання, що становить переважну більшість випадків деменції у осіб літнього і похилого віку, характеризується глобальним зниженням когнітивної функції. Спадковий анамнез — другий за значущістю фактор ризику хвороби Альцгеймера після віку, тому краще

розуміння генетики цього захворювання є ключовим у визначенні патогенетичних механізмів, що призводять до захворювання. Генетично хвороба Альцгеймера є складним захворюванням і характеризується віковою дихотомією. Дуже рідко спостерігається ранній дебют, здебільшого асоційований із мутаціями в різних генах, що передані автосомно-домінантним шляхом, тимчасом як пізніший початок хвороби Альцгеймера не демонструє очевидного сімейного зв'язку.

Рання форма хвороби Альцгеймера репрезентує лише маленьку частку всіх випадків захворювання (J 5 %) і типово вражає осіб віком до 65 років, демонструючи автосомно-домінантне успадкування в межах родин із випадками захворювання. Сьогодні відомо більше 160 мутацій у 3 генах, відповідальних за ранній дебют хвороби Альцгеймера, включаючи b-білок-попередник (APP) на хромосомі 21 [104], пресенілін-1 (*PSEN1*) на хромосомі 14 [105] і пресенілін-2 (*PSEN2*) на хромосомі 1 [106; 107]. Здебільшого це видозмінений ген *PSEN1*, який обумовлює більшість випадків хвороби Альцгеймера з початком у віці до 50 років. Наразі всі ці мутації належать до загального біохімічного спектра, а саме змінюють продукцію b-білка, що призводить до відносного великої кількості різновиду Ab42, що насамкінець спричинює загибель нейрона та слабоумство. Сучасний короткий огляд мутацій у цих генах представлений у базі даних мутацій Frontotemporal Dementia [108].

Більшість усіх випадків хвороби Альцгеймера виникає у віці після 65 років. Дослідження сімейного зв'язку та близнюків остаточно віддають головну роль генетичним чинникам, досі для цієї форми захворювання був встановлений лише один фактор, а саме b4 алель гена аполіпопротеїну E на хромосомі 19q13 (*APOE*) [109; 110]. На відміну від всіх інших отриманих даних, ефект ризику *APOE-b4* послідовно повторювався у великій кількості досліджень різних етнічних груп, унаслідок чого для європейської раси співвідношення шансів становило приблизно 3 для гетерозиготних і приблизно 15 для гомозиготних носіїв b4

алелей. Про слабкий протективний ефект алеля b2 цього ж гена повідомляють інші дослідники. На відміну від мутацій у відомих генах, *APOE-b4* є ані необхідним, ані достатнім, щоб викликати хворобу Альцгеймера, але він служить генетичним модифікатором ризику, зменшуючи вік її початку. Незважаючи на відому генетичну асоціацію, біохімічні наслідки змін *APOE-b4* у патогенезі хвороби Альцгеймера повністю не встановлені, але, ймовірно, охоплюють b-агрегацію та/або гомеостаз холестерину.

Хвороба Паркінсона — друге за частотою нейродегенеративне захворювання осіб дорослого віку, що характеризується серйозною втратою допамінергічних нейронів в *substantia nigra* і появою цитоплазматичних включень, утворених нерозчинними білковими агрегаціями (тілця Леві), що призводять до прогресування захворювання, яке включає класичну тріаду: тремор, брадікінезію й ригідність. Типовим є дебют захворювання у віці між 50 й 60 роками. Хоча спадковість, а отже, внесок генетичних факторів у поширеність хвороби Паркінсона, ймовірно, менше, ніж при хворобі Альцгеймера, генетика відіграє головну роль у поясненні причин втрати нейронів *substantia nigra* при широкому спектрі клінічно й гістопатологічно різних випадків хвороби Паркінсона. Як і у випадку з хворобою Альцгеймера, ймовірно, наявна вікозалежна дихотомія: більшість людей з раннім, або навіть юним початком мають типове менделівське спадкування. Однак, на відміну від хвороби Альцгеймера, ці випадки показують перевагу автосомно-рецесивного типу спадкування. Тривають дебати щодо того, чи відіграють генетичні фактори істотну роль у ризику розвитку хвороби Паркінсона у випадках з початком близько 50 років [111; 112].

Незважаючи на ці сумніви, є багато генетичних досліджень різних форм хвороби Паркінсона. Мутації, принаймні у 5 генах, підтвердили причетність до сімейного паркінсонізму раннього початку: b-синуклеїн (*SNCA* або *PARK1*); паркін (*PRKN* або *PARK2*); *DJ-1* (*DJ1* або *PARK7*); PTEN-індукована кіназа-1 (*PINK1* або *PARK6*) і збагачена лейцином повторна кіназа-2 або

дардарин (*LRKK2* або *PARK8*)) з декількома іншими регіонами зчеплення [113–116]. Першим з генів, причетність якого до виникнення хвороби Паркінсона доведено, був *PARK1* (на хромосомі 4q21), який регулює синтез білка, що є головним елементом однієї з класичних нейропатологічних ознак хвороби, тобто b-синуклеїну [111], який знаходиться у ядрі тілця Леві. Втім, точні механізми, що лежать в основі токсичності b-синуклеїну для нервової тканини, досі залишаються до кінця не з'ясованими. Недавнім дослідженням встановлено, що деякі мутації *SNCA* можуть змінити нормальну функцію білка кількісно, але не якісно, шляхом дублювання або потроєння гена b-синуклеїну [117–118]. Зовсім недавно мутації в другому гені з домінантним спадкуванням були ідентифіковані в декількох різних лабораторіях (*LRKK2*). Водночас функціональні наслідки мутацій *LRKK2* усе ще лишаються невідомими. Існує робоча гіпотеза про те, що деякі мутації можуть бути інтерферентними до активності протеїнкінази [119].

Тимчасом як зміни в *SNCA* й *LRKK2* є провідною причиною автосомно-домінантних форм хвороб Паркінсона, більшість родоводів хворих на цю хворобу фактично показують рецесивний спосіб спадкування (табл. 6.12). Найпоширеніший ген, задіяний у рецесивному паркінсонізмі, — це паркін (*PRKN*) на хромосомі 6q25 [113], що викликає майже половину всіх випадків хвороби Паркінсона з раннім розвитком. Паркін — убікитинова лігаза, що залучена в убікитинування білків, які руйнуються протеосомальною системою. Спектр мутацій паркіну є широким: від одонуклеотидних замінів амінокислотних залишків до складних геномних перестановок і делецій екзону, які, ймовірно, призводять до втрати функції білка. Припускають, що це може викликати загибель клітин, переважно нейронів, які більш уразливі за цитостатичні ушкодження, наприклад, нагромадження глікозильованого b-синуклеїну [120]. На додаток до мутацій паркіну, виявлено дві незалежні гомозиготні мутації в *DJ1* [117] на хромосомі 1p36 у хворих на хворобу Паркінсона [121]. Обидві мутації призво-

дять до втрати функції DJ1 — білка, залученого у реакцію на окисний стрес. Тимчасом як кілька досліджень незалежно підтвердили присутність мутації *DJ1* в інших випадках хвороби Паркінсона, частота патологічно обтяжених варіантів у цьому гені є низькою (близько 1 %) [122]. На відстані менше ніж 13 kb довгого плеча тієї ж самої хромосоми згодом були виявлені додаткові мутації *PINK1*, що викликають хворобу Паркінсона [113] після позитивного підтвердження зв'язку із цією ділянкою [123]. Цей фермент найбільш активний в мозку. Перші дві ідентифіковані мутації (*G309D* та *W437ter*) призводять до втрати функції білка, що може ушкодити нейрони, найбільш уразливі до клітинного стресу, подібного до ефектів мутацій паркіну. Тільця Леві звичайно не виявляють в осіб зі збереженою когнітивною функцією, що страждають на хворобу Паркінсона. Одночасно незрозуміло, чи присутні вони у випадках хвороби Паркінсона, асоційованих з мутаціями в *DJ1* й *PINK1*.

Були описані шість додаткових кандидатних локусів для хвороби Паркінсона, включаючи передбачувані мутації у термінальній убікітинкарбоксигідролазі L1 (*UCHL1*) на хромосомі 4p14 [124] і в ядерному рецепторі підродини 4 (*NR4A2*, або *NURR1*, розташованому на 2q22) [125]. Однак на відміну від раніше виділених генів хвороби Паркінсона, вони не були надалі підтверджені після початкових повідомлень. Недавній метааналіз поліморфізму S18U в *UCHL1* показав незначний, але істотний захисний ефект алеля U [111]. Це дає змогу припустити, що цей ген може фактично бути фактором чутливості, а не причинним геном хвороби Паркінсона.

На відміну від хвороби Паркінсона з раннім початком, спадкові фактори форм захворювання з більш пізнім початком відіграють незначну роль [118]. Втім, незважаючи на це протиріччя, була виконана безліч повногеномних скринінгів перехресних сімейних форм хвороби Паркінсона з пізнім початком, але лише кілька геномних інтервалів, що збігаються, були ідентифіковані. Одна з найбільш ретельно

вивчених ділянок — регіон 17q21 гена, що кодує тау-білок (*MAPT*, Microtubule-Associated Protein Tau) [126]. Попередньо показано, що рідкісні місенс-мутації в *MAPT* призводять до синдрому фронтотемпорального слабоумства з паркінсонізмом, пов'язаним із хромосомою 17 (*FTDP-17*), але наразі ці мутації не були ідентифіковані як причина паркінсонізму без фронтотемпоральної дегенерації.

Дослідження гаплотипу тау-гена показали деяке значення генетичної асоціації H1-гаплотипу з обома варіантами хвороби Паркінсона [127; 128] і сполученим синдромом — прогресивним супрануклеарним паралічем. Незважаючи на недостатнє підтвердження генетичного зв'язку із хромосомою 19q13, варіанти *APOE* були також перевірені на роль чинників хвороби Паркінсона і пов'язаних з нею синдромів. Сьогодні відомо більше 30 різних перехресних досліджень, присвячених цій проблемі. Однак деякі автори повідомляють про істотний ефект ризику *APOE-b4* для хвороби Паркінсона, тимчасом як інші бачать тільки асоціацію з певними фенотипами хвороби Паркінсона або навіть ефект ризику b2-алелей, які є захисними для хвороби Альцгеймера. Метааналіз впливу *APOE* на хворобу Паркінсона довів, що тільки збільшення b2-зв'язаного ризику хвороби Паркінсона залишається істотним, а всі інші чинники, про які опубліковано раніше, мають спільний вплив [112]. Нарешті, в автономно-домінантній сімейній хворобі Паркінсона потенційну роль відіграють варіанти *SNCA* у ризику цієї хвороби з пізнім початком [129].

Аміотрофічний латеральний склероз (АЛС), також відомий як хвороба моторних нейронів, або хвороба Луї Джеккінга, характеризується швидкопрогресуючим виродженням моторних нейронів у головному й спинному мозку, що призводить до паралічу й передчасної смерті. У цілому, поширеність АЛС є низькою (приблизно 5 на 100 000), але для цього захворювання характерне збільшення частоти з віком, особливо між 55 і 75 роками. Погіршення когнітивних функцій і слабоумство супроводжують АЛС приблизно у 5 % випадків.

Таблиця 6.12

Гени-кандидати, встановлені для нейродегенеративних захворювань [130]

Захворювання	Ген	Білок	Хромосомна локалізація	Спадковість	Відношення до патогенезу
Хвороба Альцгеймера	<i>APP</i>	Ab-білок-попередник	21q21	Домінантний тип успадкування	Змінена продукція Ab (співвідношення $Ab_{42}/Ab_{40} = 1$) і агрегація
	<i>APOE</i>	Аполіпопротеїн E	19q13	Фактор ризику	Невідоме (агрегація Ab, метаболізм ліпідів)
	<i>PSEN1</i>	Пресенілін 1	14q24	Домінантний тип успадкування	Змінена продукція Ab (співвідношення $Ab_{42}/Ab_{40} = 1$)
	<i>PSEN2</i>	Пресенілін 2	1q31	Домінантний тип успадкування	Змінена продукція Ab (співвідношення $Ab_{42}/Ab_{40} = 1$)
Хвороба Паркінсона	<i>SNCA</i>	а-Синуклеїн	4q21	Домінантний тип успадкування	Нейротоксичність шляхом агрегації а-синуклеїну
	<i>PRKN</i>	Паркін	6q25	Рецесивний тип успадкування	Уповільнення деградації білка протеосою
	<i>DJ1</i>	DJ-1	1p36	Рецесивний тип успадкування	Ослаблення відповіді на оксидативний стрес
	<i>PINK1</i>	PTEN-індукована кіназа 1	1p36	Рецесивний тип успадкування	Дисфункція мітохондрій (?)
	<i>LRRK2</i>	Дардарин	12q12	Домінантний тип успадкування	Невідомо
Фронтотемпоральна деменція	<i>MAPT</i>	Тау-білок	17q21	Домінантний тип успадкування	Змінена продукція тау-білка (співвідношення $4R/3R = 1$)
Латеральний аміотрофічний склероз	<i>SOD1</i>	Супероксиддисмутаза 1	21q22	Домінантний і рецесивний типи успадкування	Порушення фолдинг/агрегації білка і/або ослаблення відповіді на оксидативний стрес
	<i>ALS2</i>	Альсин	2q33	Рецесивний тип успадкування	Ослаблення нейропротекції

Сімейний АЛС спостерігають приблизно у 10 % усіх випадків, але здебільшого захворювання виникає під впливом генетичних чинників [130]. На додаток до варіантів мутації в *MAPT*, мутації в 2 генах (*SOD1* й *ALS2*; див. табл. 6.12) вважають можливою причиною сімейного АЛС. Че-

рез два роки після того, як у 1991 р. був описаний генетичний зв'язок АЛС із хромосомою 21q, мутації були ідентифіковані в гені, що кодує супероксиддисмутази 1 (*SOD1*), — фермент, який каталізує перетворення супероксидних радикалів у перекис водню. Тим же часом, більше 100 му-

тацій в *SOD1* описані у 200 родовадах із сімейним АЛС у світі та майже всі, за винятком однієї з відомих мутацій *SOD1*, успадкованих за автосомно-домінантним типом. Усі разом ці мутації становлять приблизно 20 % випадків сімейного АЛС і 10 % спорадичних випадків захворювання, тобто не показують очевидну сімейну сегрегацію [131]. Мутації в *SOD1*, ймовірно, призводять до нейродегенерації шляхом місфолдингу білка, що порушує цитоскелет і відповідь на оксидативний стрес [132; 133].

Нещодавно мутації у другому гені (*ALS2*; алсин) були ідентифіковані в різних родинах з рідкісним раннім початком автосомно-рецесивної форми АЛС та первинним латеральним склерозом [134; 135]. Додаткові мутації в *ALS2* також описані в родинах, що страждають на ювенільний висхідний спадковий спастичний параліч. Це передбачає значну фенотипну мінливість мутацій *ALS2*. Існує функціональне підтвердження того, що фізіологічна експресія алсину є нейропротекторною у присутності мутацій *SOD1* [136]. Таким чином, вважають, що мутації *ALS2* анулюють захисну роль цього білка.

Кілька інших генів-кандидатів для сімейного АЛС були виявлені за допомогою аналізу редагування в індивідуальних родинах або більших вибірках, але жоден з основних генних дефектів не мав достатньої доказової бази, щоб вважатися причинним. Недавній повногоеномний скринінг точно визначив істотний зв'язок із хромосомою 9q21 у родинах з АЛС і фронтолобальною деменцією [137]. Цей регіон збігається з місцем розташування, пов'язаним з хворобою Альцгеймера [138], що, можливо, указує на загальні патофізіологічні механізми для нейродегенерації або слабоумства при цих захворюваннях.

Обговорюючи розмаїтість клінічних і гістопатологічних особливостей нейродегенеративних порушень, необхідно розділити епідеміологічні та генетичні аспекти. Усі вони демонструють етіологічну дихотомію щодо рідкісних сімейних форм, з одного боку, й більше розповсюджених багатфакторних, які зазвичай мають більш пізній

початок, з другого. Можливо, що численні випадки, які досі вважали несімейними та спорадичними, насамкінець виявляться результатом певних мутацій, що викликають захворювання, або генетичними факторами ризику, як, наприклад, *APOE-b4* для хвороби Альцгеймера. У деяких випадках ті ж самі мутації й поліморфізми пов'язані і клінічно, і нейропатологічно з різноманітними механізмами хвороби. Наприклад, відповідно до недавнього проведеного метааналізу, поліморфізм *APOE* може бути фактором ризику не тільки для хвороби Альцгеймера, але також і для хвороби Паркінсона, хоча й за різними алелями. Якщо припущення підтвердиться, ці спостереження могли б указати на одну або кілька загальних генетичних ознак деструкції нейрона. Нарешті, генетика могла б істотно допомогти пояснити молекулярні та біохімічні механізми, які призводять до нейродегенерації майже в усіх описаних синдромах. Детальне розуміння генетичних механізмів нейродегенерації є важливим для прогнозу та створення ранніх стратегій запобігання й лікування, з перспективою значно зменшити частоту цих дегенеративних захворювань.

Безпрецедентний прогрес розвитку наукового потенціалу молекулярної біології, генетики й фармакології у ХХІ ст. дозволяє з народження прогнозувати схильність до розвитку багатьох захворювань мозку й серця. Генетичний паспорт не змінюється протягом усього життя, тому облік даних генетичного паспорта надає унікальну можливість грамотно визначити дієту, рухову активність, запобігти впливу професійних хімічних шкідливостей, несприятливих екологічних факторів, паління, а в деяких випадках — ятрогенним наслідкам фармакотерапії. Отже, аналіз генетичного паспорта сприятиме довгостроковій профілактиці багатьох захворювань, зокрема, кардіоваскулярній і цереброваскулярній патології.

Сьогодні в Україні відпрацьовані технології визначення генетичного паспорта, що відповідають кращим стандартам світової практики. Адекватна інтерпретація генетичного паспорта з використанням методів

біоінформатики, даних доказової медицини з урахуванням індивідуальних характеристик пацієнта, є вельми важливим завданням. Безумовно, широкомасштабну генетичну паспортизацію населення України можна виконати тільки за соціальної підтримки з боку держави, як це відбувається в розвинених країнах. Реалізація настільки масштабного й передового проекту сприятиме виходу України з держав-аутсайдерів за тривалістю і якістю життя.

Список літератури

1. *Генетическая медицина* / В. Н. Запорожан, В. А. Кордюм, Ю. И. Бажора [и др.] ; под ред. В. Н. Запорожана. — Одесса : Одес. гос. мед. ун-т, 2008. — 432 с.
2. *Comprehensive Mapping of Long-Range Interactions Reveals Folding Principles of the Human Genome* / E. Lieberman-Aiden, N. L. van Berkum, L. Williams [et al.] // *Science*. — 2009. — Vol. 326, N 5950. — P. 289-293.
3. *Plomin R. Common disorders are quantitative traits* / R. Plomin, C. M. A. Haworth, O. S. P. Davis // *Nature Reviews Genetics*. — 2009. — Vol. 61, Issue 9. — P. 872-878.
4. *Ioannidis J. P. A. Genetic and molecular epidemiology* / John P. A. Ioannidis // *J. Epidemiol. Community Health*. — 2007. — Vol. 61. — P. 757-758.
5. *Overinterpretation of Clinical Applicability in Molecular Diagnostic Research* / B. Lumbreras, L. A. Parker, M. Porta [et al.] // *Clinical Chemistry*. — 2009. — Vol. 55. — P. 786-794.
6. *Herrmann S. Studying genotype-phenotype relationships: cardiovascular disease as an example* / S. Herrmann, M. Paul // *J. Mol. Med.* — 2002. — Vol. 80. — P. 282-289.
7. *Torshin I. Yu. Sensing the Charge : From molecular Genetics to Personalized Medicine (Bioinformatics in the Post-Genomic Era)* / I. Yu. Torshin. — N. Y. : Nova Biomed Books, 2008. — 366 p.
8. *Case-control study of risk of cerebral sinus thrombosis in oral contraceptive users and in [correction of who are] carriers of hereditary prothrombotic conditions. The Cerebral Venous Sinus Thrombosis Study Group* / S. F. de Bruijn, J. Stam, M. M. Koopman, J. P. Vandenbroucke // *BMJ*. — 1998. — Vol. 316, N 7131. — P. 589-592.
9. *Risch N. J. Searching for genetic determinants in the new millennium* / N. J. Risch // *Nature*. — 2000. — Vol. 405. — P. 847-856.
10. *High risk of cerebral-vein thrombosis in carriers of a prothrombin-gene mutation and in users of oral contraceptives* / I. Martinelli, F. Sacchi, G. Landi [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 1998. — Vol. 338, N 25. — P. 1793-1797.
11. *Lip G. Y. H. Thrombogenesis, atherogenesis and angiogenesis in vascular disease: a new "vascular triad"* / G. Y. H. Lip, A. D. Blann // *Annals of Medicine*. — 2004. — Vol. 36, N 2. — P. 119-125.
12. *del Zoppo G. I. Virchow's Triad : The Vascular Basis of Cerebral Injury* / G. J. del Zoppo // *Rev. Neurol. Dis.* — 2008. — Vol. 5 (Suppl. 1). — S. 12-21.
13. *dbSNP: the NCBI database of genetic variation* / S. T. Sherry, M. H. Ward, M. Kholodov [et al.] // *Nucleic Acids Res.* — 2001. — Vol. 29. — P. 308-311.
14. *Glazier A. M. Finding genes that underlie complex traits* / A. M. Glazier, J. H. Nadeau, T. J. Aitman // *Science*. — 2002. — Vol. 298. — P. 2345-2349.
15. *Delgado R. M. Pathophysiology of heart failure. A look at the future* / R. M. Delgado, J. Willerson // *Tex. Heart Inst. J.* — 1999. — Vol. 26. — P. 28-33.
16. *Gene and cell-based therapies for heart disease* / L. G. Melo, A. S. Pachori, D. Kong [et al.] // *FASEB J.* — 2004. — Vol. 18. — P. 648-663.
17. *Ковалевська Л. А. Особливості перебігу хронічної серцевої недостатності у хворих різних вікових груп* / Л. А. Ковалевська // *Одеський медичний журнал*. — 2006. — № 4. — С. 54-57.
18. *Association of two angiotensinogen gene polymorphisms, M235T and G(-6)A,*

with chronic heart failure / M. Goldbergoва, L. Spinarova, J. Spinar [et al.] // Int. J. Cardiol. — 2003. — Vol. 89. — P. 267-272.

19. *Synergistic* polymorphisms of b1- and 2c-adrenergic receptors and the risk of congestive heart failure / K. M. Small, L. E. Wagoner, A. M. Levin [et al.] // N. Engl. J. Med. — 2002. — Vol. 347. — P. 1135-1142.

20. *Role of beta1- and beta2-adrenoceptor polymorphisms in heart failure: a case-control study* / L. Covolo, U. Gelatti, M. Metra [et al.] // Eur. Heart J. — 2004. — Vol. 25. — P. 1534-1541.

21. *Is there a role of the Thr164Ile-beta(2)-adrenoceptor polymorphism for the outcome of chronic heart failure?* / K. Leineweber, G. Tenderich, C. Wolf [et al.] // Basic Res. Cardiol. — 2006. — Vol. 101. — P. 479-484.

22. *Relationship between ACE gene polymorphism and ischemic chronic heart failure in Turkish population* / T. Akbulut, T. Bilsel, S. Terzi [et al.] // Eur. J. Med. Res. — 2003. — Vol. 8. — P. 247-253.

23. *Donor interleukin-4 promoter gene polymorphism influences allograft rejection after heart transplantation* // J. Heart Lung. Transplant. — 2002. — Vol. 21. — P. 340-346.

24. *Covolo L., Gelatti U., Metra M. [et al.] Angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and heart failure: a case-control study* / F. J. Bijlsma, J. van Kuik, M. G. Tilanus [et al.] // Biomarkers. — 2003. — Vol. 8. — P. 423-429.

25. *Role of b1- and a2c-adrenergic receptor polymorphisms and their combination in heart failure: a case-control study* / M. Metra, C. Zani, L. Covolo [et al.] // Eur. J. Heart. Fail. — 2006. — Vol. 8 — P. 131-135.

26. *Tumor necrosis factor-alpha polymorphism in Turkish patients with dilated cardiomyopathy* / M. Alikasifoglu, L. Tokgozoglu, T. Acil [et al.] // Eur. J. Heart Fail. — 2003. — Vol. 5. — P. 161-163.

27. *Genetic polymorphisms and heart failure* / G. S. Bleumink, A. F. Schut, M. C.

Sturkenboom [et al.] // Genet. Med. — 2004. — Vol. 6. — P. 465-474.

28. *Chiadini B. D. Meta-analysis of 4 coronary heart disease genome-wide linkage studies confirms a susceptibility locus on chromosome 3q* / B. D. Chiadini, C. M. Lewis // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2003. — Vol. 23. — P. 1863-1868.

29. *Cordell H. J. Epistasis: what it means, what it doesn't mean, and statistical methods to detect it in humans* / H. J. Corde // Hum. Mol. Genet. — 2002. — Vol. 11. — P. 2463-2468.

30. *Zintzaras E. Response to endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and susceptibility to hypertension: genotype versus haplotype analysis* / E. Zintzaras, G. Kitsios, I. Stefanidis // Hypertension. — 2006. — Vol. 49. — E2.

31. *Increased risk of venous thrombosis in oral-contraceptive users who are carriers of factor V Leiden mutation* / J. P. Vandenbroucke, T. Koster, E. Briet [et al.] // Lancet. — 1994. — Vol. 344, N 8935. — P. 1453-1457.

32. *Tang Z. Candidate genes and confirmed genetic polymorphisms associated with cardiovascular diseases: a tabular assessment* / Z. Tang, R. P. Tracy // J. Thromb. Thrombolysis. — 2001. — Vol. 11, N 1. — P. 49-81.

33. *Identification of excess clustering of coronary heart diseases among extended pedigrees in a genealogical population database* / B. D. Horne, N. J. Camp, J. B. Muhlestein [et al.] // Am. Heart. J. — 2006. — Vol. 152. — P. 305-311.

34. *Zintzaras E. Identification of chromosomal regions linked to premature myocardial infarction: a meta-analysis of whole-genome searches* / E. Zintzaras, G. Kitsios // J. Hum. Genet. — 2006. — Vol. 51. — P. 1015-1021.

35. *Heterogeneity-based genome search meta-analysis for preeclampsia.* / E. Zintzaras, G. Kitsios, G. A. Harrison [et al.] // Hum. Genet. — 2006. — Vol. 120. — P. 360-370.

36. *Clayton D. Epidemiological methods for studying genes and environmental factors*

- in complex diseases / D. Clayton, P. M. McKeigue // *Lancet*. — 2001. — Vol. 358. — P. 1356-1360.
37. *Glazier A. M.* Finding genes that underlie complex traits / A. M. Glazier, J. H. Nadeau, T. J. Aitman // *Science*. — 2002. — Vol. 298. — P. 2345-2349.
38. *Williams M. S.* Genetics of arterial prothrombotic risk states / M. S. Williams // *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. — 2001. — Vol. 226, N 5. — P. 409-419.
39. *Ioannidis J. P.* Extreme between-study homogeneity in meta-analyses could offer useful insights / J. P. Ioannidis, T. A. Trikalinos, E. Zintzaras // *J. Clin. Epidemiol.* — 2006. — Vol. 59. — P. 1023-1032.
40. *Measuring inconsistency in meta-analyses* / J. P. Higgins, S. G. Thompson, J. J. Deeks [et al.] // *BMJ*. — 2003. — Vol. 327. — P. 557-560.
41. *Torshin I. Yu.* Bioinformatics in the post-genomic era: the role of biophysics / I. Yu. Torshin. — N.-Y., USA : Nova Biomedical Books, 2007. — 255 p.
42. *The prothrombotic paradox of hypertension: role of the renin-angiotensin and kallikrein-kinin systems* / A. W. Dielis, M. Smid, H. M. Spronk [et al.] // *Hypertension*. — 2005. — Vol. 46, N 6. — P. 1236-1242.
43. *Zintzaras E.* Methylenetetrahydrofolate reductase gene and susceptibility to breast cancer: a meta-analysis / E. Zintzaras // *Clin. Genet.* — 2006. — Vol. 69. — P. 327-336.
44. *Fogari R.* Antihypertensive drugs and fibrinolytic function / R. Fogari, A. Zoppi // *Am. J. Hypertens.* — 2006. — Vol. 19, N 12. — P. 1293-1299.
45. *Bataineh A.* Angiotensin II, nitric oxide, and end-organ damage in hypertension / A. Bataineh, L. Raij // *Kidney Int. Suppl.* — 1998. — Vol. 68. — P. 14-19.
46. *Donahue M. P.* Redefining heart failure: the utility of genomics / M. P. Donahue, D. A. Marchuk, H. A. Rockman // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2006. — Vol. 48. — P. 1289-1298.
47. *Szklo M. M.* Epidemiology: beyond the basics / M. M. Szklo, F. J. Nieto. — Jones and Bartlett Publishers, 2006. — 456 p.
48. *Dean M.* Approaches to identify genes for complex human diseases: lessons from Mendelian disorders / M. Dean // *Hum. Mutat.* — 2003. — Vol. 22. — P. 261-274.
49. *Barrett J. C.* Evaluating coverage of genome-wide association studies / J. C. Barrett, L. R. Cardon // *Nat. Genet.* — 2006. — Vol. 38. — P. 659-662.
50. *Mapping complex disease loci in whole-genome association studies* / C. S. Carlson, M. A. Eberle, L. Kruglyak [et al.] // *Nature*. — 2004. — Vol. 429. — P. 446-452.
51. *Genetic versus environmental aetiology of the metabolic syndrome among male and female twins* / P. Poulsen, A. Vaag, K. Kyvik [et al.] // *Diabetologia*. — 2001. — Vol. 44. — P. 537-543.
52. *Heritability of features of the insulin resistance syndrome in a community-based study of healthy families* / M. S. Freeman, M. W. Mansfield, J. H. Barrett [et al.] // *Diabet. Med.* — 2002. — Vol. 19. — P. 994-999.
53. *A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction* / K. Clement, C. Vaisse, N. Lahlou [et al.] // *Nature*. — 1998. — Vol. 392. — P. 398-401.
54. *Farooqi I. S.* Monogenic human obesity syndromes / I. S. Farooqi, S. O'Rahilly // *Recent. Prog. Horm. Res.* — 2004. — Vol. 59. — P. 409-424.
55. *A whole-genome scan for obstructive sleep apnea and obesity* / L. Palmer, S. Buxbaum, E. Larkin [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* — 2003. — Vol. 72. — P. 340-350.
56. *A genomewide linkage scan for quantitative-trait loci for obesity phenotypes* / H. W. Deng, H. Deng, Y. J. Liu [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 70. — P. 1138-1151.

57. *A follow-up linkage study for quantitative trait loci contributing to obesity-related phenotypes* / Y. Liu, F. Xu, H. Shen [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2004. — Vol. 89. — P. 875-882.
58. *Assessment of genetic linkage and parent-of-origin effects on obesity* / Y. F. Guo, H. Shen, Y. J. Liu [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2006. — Vol. 91. — P. 4001-4005.
59. *Factors of insulin resistance syndrome-related phenotypes are linked to genetic locations on chromosomes 6 and 7 in non-diabetic Mexican-Americans* / R. Arya, J. Blangero, K. Williams [et al.] // Diabetes. — 2002. — Vol. 51. — P. 841-847.
60. *Quantitative-trait loci influencing body-mass index reside on chromosomes 7 and 13: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study* / M. F. Feitosa, I. B. Borecki, S. S. Rich [et al.] // Am. J. Hum. Genet. — 2002. — Vol. 70. — P. 72-82.
61. *Interaction between obesity-susceptibility loci in chromosome regions 2p25-p24 and 13q13-q21* / C. H. Dong, W. D. Li, D. Li [et al.] // Eur. J. Hum. Genet. — 2005. — Vol. 13. — P. 102-108.
62. *A genome-wide linkage scan for body mass index on Framingham Heart Study families* / R. Moslehi, A. M. Goldstein, M. Beerman [et al.] // BMC Genet. — 2003. — Vol. 4, Suppl 1. — P. 97.
63. *Genes, lifestyles and obesity* / A. Marti, M. J. Moreno-Aliaga, J. Hebebrand [et al.] // Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. — 2004. — Vol. 28, Suppl 3. — P. 29-36.
64. *Large quantitative effect of melanocortin-4 receptor gene mutations on body mass index* / A. Dempfle, A. Hinney, M. Heinkel-Gutenbrunner [et al.] // J. Med. Genet. — 2004. — Vol. 41. — P. 795-800.
65. *Uncoupling protein 2 promoter polymorphism -866G/A, central adiposity, and metabolic syndrome in Asians* / H. Shen, L. Qi, E. S. Tai [et al.] // Obesity. — 2006. — Vol. 14. — P. 656-661.
66. *Influence of the -866G/A polymorphism of the UCP2 gene on an obese pediatric population* / R. Zurbano, M. C. Ochoa, M. J. Moreno-Aliaga [et al.] // Nutr. Hosp. — 2006. — Vol. 21. — P. 52-56.
67. *Meta-analysis on the effect of the N363S polymorphism of the glucocorticoid receptor gene (GRL) on human obesity* / A. Marti, M. C. Ochoa, A. Sanchez-Villegas [et al.] // BMC Med. Genet. — 2006. — Vol. 7. — P. 50-60.
68. *Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease* / K. E. Lohmueller, C. L. Pearce, M. Pike [et al.] // Nat. Genet. — 2003. — Vol. 33. — P. 177-182.
69. *Genetic versus environmental aetiology of the metabolic syndrome among male and female twins.* / P. Poulsen, A. Vaag, K. Kyvik [et al.] // Diabetologia. — 2001. — Vol. 44. — P. 537-543.
70. *A combined analysis of genomewide linkage scans for body mass index from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Blood Pressure Program* / X. Wu, R. S. Cooper, I. Borecki [et al.] // Am. J. Hum. Genet. — 2002. — Vol. 70. — P. 1247-1256.
71. *Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome* / A. Kissebah, G. Sonnenberg, J. Myklebust [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2000. — Vol. 97. — P. 14478-14483.
72. *Multivariate linkage analysis of blood pressure and body mass index.* / S. Turner, S. Kardina, E. Boerwinkle [et al.] // Genet. Epidemiol. — 2004. — Vol. 27. — P. 64-73.
73. *Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits* / A. Scuteri, S. Sanna, W. M. Chen [et al.] // PLoS Genet. — 2007. — Vol. 3. — P. e115.
74. *Yang W. Genetic epidemiology of obesity* / W. Yang, T. Kelly, J. He // Epidemiol. Rev. — 2007. — Vol. 29. — P. 49-61.

75. Goodarzi M. O. Testing the gene or testing a variant? The case of TCF7L2 / M. O. Goodarzi, L. Rotter // *Diabetes*. — 2007. — Vol. 56. — P. 2417-2419.
76. *Fat* and carbohydrate intake modify the association between genetic variation in the FTO genotype and obesity / E. Sonestedt, C. Roos, B. Gullberg [et al.] // *American Journal of Clinical Nutrition*. — 2009. — Vol. 90. — P. 1418-1425.
77. *Association Analysis of Variation in/* Near FTO, CDKAL1, SLC30A8, HHEX, EXT2, IGF2BP2, LOC387761, and CDKN2B With Type 2 Diabetes and Related Quantitative Traits in Pima Indians / R. Rong, R. L. Hanson, D. Ortiz [et al.] // *Diabetes*. — 2009. — Vol. 58. — P. 478-488.
78. *The human obesity gene map: the 2005 update* / T. Rankinen, A. Zuberi, Y. C. Chagnon [et al.] // *Obesity* (Silver Spring). — 2006 — Vol. 14. — P. 529-644.
79. *Porte D. Ellenberg & Rifkin's diabetes mellitus* / D. Porte, R. S. Sherwin, A. Baron. — N. Y., USA : McGraw-Hill, 2003. — 1047 p.
80. *Centers for Disease Control and Prevention. 2005. Diabetes maps. Maps — diabetes and gestational diabetes trends among adults in the united states, behavioral risk factor surveillance system: 1990, 1995 and 2001.* [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.cdc.gov/diabetes/statistics/maps/index.htm>.
81. Zimmet P. Preventing Type 2 diabetes and the dysmetabolic syndrome in the real world: a realistic view / P. Zimmet, J. Shaw, K. G. Alberti // *Diabet. Med.* — 2003. — Vol. 20. — P. 693-702.
82. Speakman J. R. Obesity: the integrated roles of environment and genetics / J. R. Speakman // *J. Nutr.* — 2004. — Vol. 134, N 8 Suppl. — P. 2090S-2105S.
83. *Metabolic* and genetic influence on glucose metabolism in type 2 diabetic subjects — experiences from relatives and twin studies / H. Beck-Nielsen, A. Vaag, P. Poulsen, M. Gaster // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2003. — Vol. 17. — P. 445-467.
84. Hirsch, I. B. Blood glucose monitoring technology: translating data into practice / I. B. Hirsch // *Endocr. Pract.* — 2004. — Vol. 10. — P. 67-76.
85. Florez J. C. The inherited basis of diabetes mellitus: implications for the genetic analysis of complex traits / J. C. Florez, J. Hirschhorn, D. Altshuler // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* — 2003. — Vol. 4. — P. 257-291.
86. Neel J. V. The “thrifty genotype” in 1998 / J. V. Neel // *Nutr. Rev.* — 1999. — Vol. 57. — P. 2-9.
87. Hales C. N. The thrifty phenotype hypothesis / C. N. Hales, D. J. Barker // *Br. Med. Bull.* — 2001. — Vol. 60. — P. 5-20.
88. Permutt M. A. Searching for type 2 diabetes genes in the post-genome era / M. A. Permutt, A. T. Hattersley // *Trends Endocrinol. Metab.* — 2000. — Vol. 11. — P. 383-393.
89. *Endoplasmic* reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes / U. Özcan, Q. Cao, E. Yilmaz [et al.] // *Science*. — 2004. — Vol. 306. — P. 457-461.
90. *Familial* aggregation of amount and distribution of subcutaneous fat and their responses to exercise training in the HERITAGE family study / L. Peñrusse, T. Rice, M. A. Province [et al.] // *Obes. Res.* — 2000. — Vol. 8. — P. 140-150.
91. *Metabolic* and genetic influence on glucose metabolism in type 2 diabetic subjects — experiences from relatives and twin studies / H. Beck-Nielsen, A. Vaag, P. Poulsen, M. Gaster // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2003. — Vol. 17. — P. 445-467.
92. Shih D. Q. Molecular etiologies of MODY and other early-onset forms of diabetes / D. Q. Shih, M. Stoffel // *Curr. Diab. Rep.* — 2002. — Vol. 2. — P. 125-134.
93. *Identification* of quantitative trait loci for glucose homeostasis: the Insulin Resis-

- tance Atherosclerosis Study (IRAS) Family Study / S. S. Rich, D. W. Bowden, S. M. Haffner [et al.] // Diabetes. — 2004. — Vol. 53. — P. 1866-1875.
94. *The Pro12Ala polymorphism in PPAR gamma2 may confer resistance to type 2 diabetes* / K. Hara, T. Okada, K. Tobe [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2000. — Vol. 271. — P. 212-216.
95. *Hardy J.* Problems and solutions in the genetic analysis of late-onset Alzheimer's disease / J. Hardy, A. Myers, F. Wavrant-De Vriese // Neurodegenerative Diseases. — 2004. — Vol. 1. — P. 213-217.
96. *Risch N. J.* Searching for genetic determinants in the new millennium / N. J. Risch // Nature. — 2000. — Vol. 405. — P. 847-856.
97. *Lander E. S.* The new genomics: global views of biology / E. S. Lander // Science. — 1996. — Vol. 274. — P. 536-539.
98. *Munafo M. R.* Assessing publication bias in genetic association studies: evidence from a recent meta-analysis / M. R. Munafo, T. G. Clark, J. Flint // Psychiatry Res. — 2004. — Vol. 129. — P. 39-44.
99. *Colhoun H. M.* Problems of reporting genetic associations with complex outcomes / H. M. Colhoun, P. M. McKeigue, G. D. Smith // Lancet. — 2003. — Vol. 361. — P. 865-872.
100. *Antihypertensive treatment modulates the association between the D/I ACE gene polymorphism and left ventricular hypertrophy: a meta-analysis* / T. Kuznetsova, J. A. Staessen, J. G. Wang [et al.] // J. Hum. Hypertens. — 2000. — Vol. 14. — P. 447-454.
101. *Meta-analysis of the association between the 7-repeat allele of the dopamine D(4) receptor gene and attention deficit hyperactivity disorder* / S. V. Faraone, A. E. Doyle, E. Mick, J. Biederman // Am. J. Psychiatry. — 2001. — Vol. 158. — P. 1052-1057.
102. *Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease* / K. E. Lohmueller, C. L. Pearce, M. Pike [et al.] // Nat. Genet. — 2003. — Vol. 33. — P. 177-182.
103. *Meta-analysis of the association between two polymorphisms in the serotonin transporter gene and affective disorders* / J. A. Lasky-Su, S. V. Faraone, S. J. Glatt, M. T. Tsuang // Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet. — 2005. — Vol. 133. — P. 110-115.
104. *Alzheimer Research Forum. 2005.* AlzGene Database for published Alzheimer disease candidate genes. [Електронний ресурс]. — Режим доступу : <http://www.alzgene.org>.
105. *Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease* / A. Goate, M. C. Chartier-Harlin, M. Mullam [et al.] // Nature. — 1991. — Vol. 349. — P. 704-706.
106. *Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease* / R. Sherrington, E. I. Rogaev, Y. Liang [et al.] // Nature. — 1995. — Vol. 375. — P. 754-760.
107. *Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene* / E. I. Rogaev, R. Sherrington, E. A. Rogaeva [et al.] // Nature. — 1995. — Vol. 376. — P. 775-778.
108. *Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus* / E. Levy-Lahad, W. Wasco, P. Poorkaj [et al.] // Science. — 1995. — Vol. 269. — P. 973-977.
109. *Alzheimer Disease & Frontotemporal Dementia Mutation Database* [Електронний ресурс]. — Режим доступу : <http://www.molgen.ua.ac.be/admutations/>.
110. *Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease* / W. J. Strittmatter, A. M. Saunders, D. Schmechel [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. — 1993. — Vol. 90. — P. 1977-1981.

111. *Increased* amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease / D. E. Schmechel, A. M. Saunders, W. J. Strittmatter [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* — 1993. — Vol. 90. — P. 9649-9653.
112. *Epidemiologic* study of 203 sibling pairs with Parkinson's disease: the GenePD study / N. E. Maher, L. I. Golbe, A. M. Lazzarini, M. H. Mark // *Neurology.* — 2002. — Vol. 58. — P. 79-84.
113. *De la Fuente-Fernandez R.* A note of caution on correlation between sibling pairs : author reply / R. de la Fuente-Fernandez // *Neurology.* — 2003. — Vol. 60. — P. 1561.
114. *Mutations* in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism / V. Bonifati, P. Rizzu, M. J. van Baren [et al.] // *Science.* — 2003. — Vol. 299. — P. 256-259.
115. *Hereditary* early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1 / E. M. Valente, P. M. Abou-Sleiman, V. Caputo [et al.] // *Science.* — 2004. — Vol. 304. — P. 1158-1160.
116. *Mutations* in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology / A. Zimprich, S. Biskup, P. Leitner [et al.] // *Neuron.* — 2004. — Vol. 44. — P. 601-607.
117. *Cloning* of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease / C. Paisán-Ruiz, S. Jain, E. W. Evans [et al.] // *Neuron.* — 2004. — Vol. 44. — P. 595-600.
118. *Alpha-synuclein* locus triplication causes Parkinson's disease / A. B. Singleton, M. Farrer, J. Johnson [et al.] // *Science.* — 2003. — Vol. 302. — P. 841.
119. *Alpha-synuclein* locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease / M. C. Chartier-Harlin, J. Kachergus, C. Roumier [et al.] // *Lancet.* — 2004. — Vol. 364. — P. 1167-1169.
120. *Albrecht M.* LRRK2 mutations and Parkinsonism / M. Albrecht // *Lancet.* — 2005. — Vol. 365. — P. 1230.
121. *Parkin* protects against the toxicity associated with mutant alpha-synuclein: proteasome dysfunction selectively affects catecholaminergic neurons / L. Petrucelli, C. O'Farrell, P. J. Lockhart [et al.] // *Neuron.* — 2002. — Vol. 36. — P. 1007-1019.
122. *Park7*, a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, on chromosome 1p36 / C. M. van Duijn, M. C. Dekker, V. Bonifati, R. J. Galjaard // *Am. J. Hum. Genet.* — 2001. — Vol. 69. — P. 629-634.
123. *The role* of pathogenic DJ-1 mutations in Parkinson's disease / P. Abou-Sleiman, D. Healy, N. Quinn [et al.] // *Ann. Neurol.* — 2003. — Vol. 54. — P. 283-286.
124. *Localization* of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36 / E. M. Valente, A. R. Bentivoglio, P. H. Dixon [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* — 2001. — Vol. 68. — P. 895-900.
125. *The ubiquitin* pathway in Parkinson's disease / E. Leroy, R. Boyer, G. Auburger [et al.] // *Nature.* — 1998. — Vol. 395. — P. 451-452.
126. *Le W. D.* Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease / W. D. Le // *Nat. Genet.* — 2003. — Vol. 33. — P. 85-89.
127. *Complete* genomic screen in Parkinson disease: evidence for multiple genes / W. K. Scott, M. A. Nance, R. L. Watts [et al.] // *JAMA.* — 2001. — Vol. 286. — P. 2239-2244.
128. *Association* of single-nucleotide polymorphisms of the tau gene with late-onset Parkinson disease / E. R. Martin, W. K. Scott, M. A. Nance [et al.] // *JAMA.* — 2001. — Vol. 286. — P. 2245-2250.
129. *Tau* gene and Parkinson's disease: a case-control study and meta-analysis / D. G. Healy, P. M. Abou-Sleiman, A. J. Lees [et al.] // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* — 2004. — Vol. 75. — P. 962-965.

130. *Alpha-synuclein* gene haplotypes are associated with Parkinson's disease / M. Farrer, D. M. Maraganore, P. Lockhart [et al.] // Hum. Mol. Genet. — 2001. — Vol. 10. — P. 1847-1851.
131. *Majoor-Krakauer D.* Genetic epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis / D. Majoor-Krakauer, P. J. Willems, A. Hofman // Clin. Genet. — 2003. — Vol. 63. — P. 83-101.
132. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* / S. Kato, P. Shaw, C. Wood-Allum [et al.] // Neurodegeneration — the molecular pathology of dementia and movement disorders ; ed. D. Dickson. — Basel (Switzerland) : Neuropath. Press, 2003. — P. 350-368.
133. *Cu/Zn* superoxide dismutase mutants associated with amyotrophic lateral sclerosis show enhanced formation of aggregates in vitro / P. B. Stathopoulos, J. A. Rumfeldt, G. A. Scholz [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. — 2003. — Vol. 100. — P. 7021-7026.
134. *Wood J. D.* Protein aggregation in motor neurone disorders / J. D. Wood, T. P. Beaujeux, P. J. Shaw // Neuropathol. Appl. Neurobiol. — 2003. — Vol. 29. — P. 529-545.
135. *The gene* encoding alsin, a protein with three guanine-nucleotide exchange factor domains, is mutated in a form of recessive amyotrophic lateral sclerosis / Y. Yang, A. Hentati, H. X. Deng [et al.] // Nat. Genet. — 2001. — Vol. 29. — P. 160-165.
136. *A gene* encoding a putative GTPase regulator is mutated in familial amyotrophic lateral sclerosis 2 / S. Hadano, C. K. Hand, H. Osuga [et al.] // Nat. Genet. — 2001.
137. *Alsin*, the product of ALS2 gene, suppresses SOD1 mutant neurotoxicity through RhoGEF domain by interacting with SOD1 mutants / K. Kanekura, Y. Hashimoto, T. Niikura [et al.] // J. Biol. Chem. — 2004. — Vol. 279. — P. 19247-19256.
138. *Linkage* of familial amyotrophic lateral sclerosis with frontotemporal dementia to chromosome 9q21-q22 / B. A. Hosler, T. Siddique, P. C. Sapp [et al.] // JAMA. — 2000. — Vol. 284. — P. 1664-1669.
139. *Results* of a high-resolution genome screen of 437 Alzheimer's disease families / D. Blacker, L. Bertram, J. Aleister [et al.] // Hum. Mol. Genet. — 2003. — Vol. 12 — P. 23-32.

Розділ 7. Молекулярна епідеміологія інфекційних хвороб

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF INFECTIOUS DISEASES

There is demonstrated the role of genotyping the infection agents in the researches of their epidemiology. At the example of molecular epidemiology of tuberculosis there was shown the significance of the studies of pathogen genotype in the research of tuberculosis bacilli evolution, the routes of specific strains spreading, the determination of the drug resistance and other issues of practical health care. The achievements of molecular epidemiology of HIV-infections and viral hepatitis are briefly reported too.

Молекулярна епідеміологія інфекційних захворювань вивчає епідеміологічні питання цих хвороб з використанням молекулярно-генетичних методів. Швидкий розвиток цього напрямку в останні роки обумовлений, перш за все, бурхливим розвитком молекулярно-генетичних технологій та широкими перспективами, які застосування цих методів відкриває для розв'язання практичних питань контролю та профілактики інфекційних захворювань. Генотипування збудників інфекційних захворювань дає можливість відповісти на такі питання, на які немає відповіді при використанні методів класичної епідеміології: виявлення джерела інфікування та безпосередніх ланцюгів розповсюдження інфекції, визначення природи рецидиву (реактивація або реінфекція), викриття випадків лабораторної крос-контамінації. Важливе практичне значення має пошук асоціації між генотипом збудника й особливостями клінічного перебігу захворювання для оптимізації стратегії лікування. Вивчення факторів ризику трансмісії штамів із підвищеною патогенністю та медикаментозно резистентних дозволяє виділити групи ризику та спланувати адекватні профілактичні заходи. Методи молекулярної епідеміології створили також нові можливості для встановлення родинних зв'язків між спорідненими патогенами та простеження їх еволюції у часі та просторі.

7.1. Молекулярна епідеміологія туберкульозу

Тривалий час вважалося, що мікобактерії туберкульозу є генетично висококонсервативною групою з дуже обмеженим спектром фенотипних відмінностей. До 90-х років XX ст. відмінності між окремими штамми збудника визначалися переважно за допомогою фаготипування та характеру медикаментозної резистентності, що суттєво обмежувало можливість епідеміологічних досліджень. Розквіт молекулярно-епідеміологічних досліджень розпочався в 1998 р., коли був цілком розшифрований геном *M. tuberculosis* на прикладі лабораторного штаму H37Rv. Відтоді були розшифровані геноми штамів 210, CDC1551, *M. bovis* штам AF2122, а також мікобактерій *M. leprae*, *M. ulcerans*, *M. avium*, *M. smegmatis* та ін. [1]. Дослідження показали, що геноми збудників комплексу *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanus*, *M. canettii*, *M. microti*) у значній мірі подібні — порівняльний аналіз показав наявність стабільної послідовності ДНК на 275 п. н. спейсері внутрішньої транскрипції і досить поліморфної ділянки, яка відокремлює 16S рРНК і 23S рРНК [2]. Більше того, аналіз 56 структурних генів у декількох сотнях ізолятів, що відрізняються філогенетично і географічно, дозволило дійти висновку,

що поліморфізм алелей є досить рідкісним. Рівень поліморфізму синонімічних комплексів у *M. tuberculosis* становить лише 0,01–0,03 %. Подальше впровадження молекулярно-генетичних технологій виявило значну генетичну різноманітність *M. tuberculosis*, представлену делеціями, дуплікаціями, інсерціями й однонуклеотидним поліморфізмом. З'ясувалося, що сукупність циркулюючих штамів мікобактерій характеризується значною варіабельністю з наявністю високо- й маловірулентних штамів, які поєднані у різні родини на підставі генетичних особливостей [3].

Сучасні підходи до генотипування мікобактерій туберкульозу базуються на вивченні поліморфних ДНК-послідовностей, які здебільшого є некодуючими (рис. 7.1) [4].

Першим із запропонованих методів та «золотим стандартом» у молекулярній епідеміології туберкульозу є метод поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів (ПДРФ, restriction fragment length polymorphism — RFLP), який базується на аналізі інсерційних послідовностей (IS)

методом Саузерн-блот гібридизації. Послідовності IS являють собою невеликі генетичні елементи, звичайно менше 2,5 т. п. н., що вельми поширені у геномі бактерій. Звичай інсерційні елементи несуть тільки генетичну інформацію, пов'язану з їхньою транспозицією та регуляцією. Як генетичний маркер при генотипуванні збудника туберкульозу використовується інсерційна послідовність IS6110, що належить до IS3 родини транспозонів і є специфічною для штамів комплексу *M. tuberculosis*. IS6110, розміром 1355 п. н., має недосконалий інвертований повтор на кінцях та обумовлює дуплікацію розміром 3–4 п. н. у ділянці вставки [5]. Спочатку передбачалося, що вставки IS6110 у геномі є випадковими, однак виявилось існування певних «гарячих точок» у геномі для інсерції [6]. Вставки IS6110 можуть призводити до розриву кодуєчих послідовностей, обумовлювати геномні делеції при рекомбінаційних подіях і впливати на генну експресію шляхом зміни активності промотора гена [7; 8]. Присутність IS6110 копій є фактором ге-

У кожному з локусів MIRU (зазвичай використовуються 12–15 локусів) присутня переважаюча кількість тандемних повторів. Кількість повторів у кожному локусі визначає MIRU генотип

Поліморфізм за великими ділянками (делеціями), який позначають як RD (regions of difference), визначають методом ПЛР

Однонуклеотидний поліморфізм — заміна однієї пари азотистих основ, наприклад, гуаніну на аденін

Інсерційна послідовність IS6110 (фланкована інвертованими повторами) розкидана в різних ділянках геному. Наявність визначається методом RFLP

Ділянка прямих повторів (DR) характеризується ідентичними повторами й унікальними спейсерами. Наявність або відсутність спейсерів 1–43 визначає споліготип

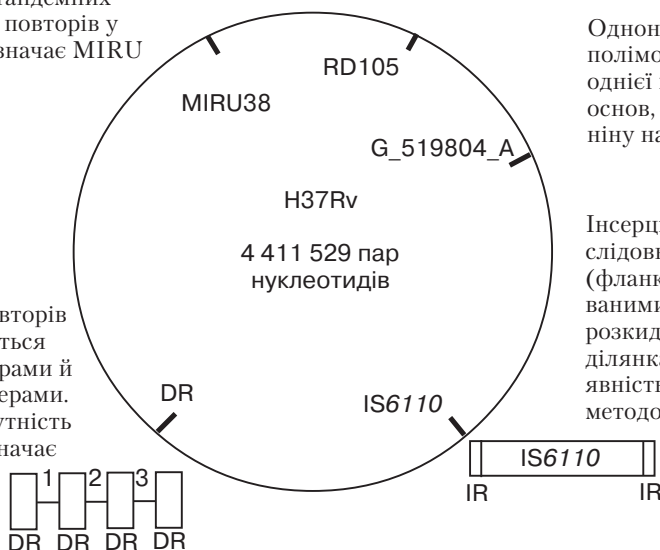


Рис. 7.1. Основні підходи до генотипування *M. tuberculosis* [4]

нотипної мінливості і, можливо, забезпечує селективну перевагу певним штамам *M. tuberculosis*. Оскільки кількість та розташування IS6110 елементів є високополіморфними, їх визначення можна використовувати як генетичний маркер. Метод ПДРФ має високу роздільну здатність, 100 % відтворюваність, є сьогодні стандартизованим, що дозволило порівнювати результати між лабораторіями різних країн і створити бази даних IS6110 генотипів мікобактерій [9; 10].

Проте IS6110 елементи мають різну частоту транспозицій у різних штамів і переважні сайти вбудовування, що обмежує використання цього методу в епідеміологічних дослідженнях. Так, більшість штамів *M. bovis*, включаючи БЦЖ, містять лише одну копію IS6110 і не можуть розрізнятися цим методом; у зв'язку з не випадковою інтеграцією роздільна здатність методу недостатня для штамів, що містять п'ять і менш послідовностей IS6110 у геномі [11]. Можливість реплікативної транспозиції ускладнює встановлення епідеміологічних зв'язків у разі виділення штамів, що відрізняються однією чи двома копіями IS6110. Метод потребує великої кількості очищеної ДНК, що унеможливує безпосереднє дослідження матеріалу, отриманого від хворого, є технологічно та економічно вимогливим, має довготривалість виконання, що значно обмежує можливості його використання у масштабних скринінгових дослідженнях [12–14]. Також виникає необхідність «перекладу» графічної інформації, яка є результатом аналізу ПДРФ, у цифрову для подальшої комп'ютерної обробки даних генотипування [15, 16]. Нині запропонований метод засновано для ПЛР, специфічної для IS6110 з рестрикційним аналізом ДНК, розроблюється програмне забезпечення для обробки даних.

Методи генотипування, що базуються на використанні ПЛР, є технічно набагато простішими, не потребують великої кількості ДНК (можливе безпосереднє дослідження отриманого від хворого матеріалу) та дозволяють представити результат генотипування у вигляді цифрового коду, що

значно полегшує статистичну обробку та введення результатів аналізу у міжнародні бази даних. Найбільш широко у сучасній молекулярній епідеміології туберкульозу застосовуються споліготипування (spaceloligonucleotide typing) і типування на основі поліморфізму довжин тандемних повторів (VNTR — variable number tandem repeats).

Споліготипування, яке було запропоновано у 1997 р. Kamerbeek et al. [17], базується на ідентифікації наявності спейсерів у регіоні прямих повторів (DR) геному *M. tuberculosis*. DR-локус *M. tuberculosis* містить від 10 до 50 копій прямих консервативних повторів розміром 36 п. н., що відокремлені один від одного варіабельними спейсерами, кожен з яких має розмір 37–41 п. н. Усього в мікобактерій було знайдено 43 типи спейсерів, з яких 37 характерні для дикого штаму, а 6 додатково характеризують *M. bovis* БЦЖ. Поліморфізм, що реєструється при споліготипуванні, пов'язаний з наявністю або відсутністю певних спейсерів у DR-регіоні мікобактерій. Споліготипування здійснюється шляхом ПЛР-ампліфікації усього DR-регіону з подальшою гібридизацією ампліфікатів з олігонуклеотидними зондами 43 спейсерів, іммобілізованими на мембрані. Використання біотин-мічених праймерів під час ампліфікації дозволяє візуалізувати результати гібридизації шляхом хемілюмінесцентної детекції. Наявність або відсутність певних спейсерних ділянок ізоляту, що досліджується, є критерієм належності штаму до певних генетичних груп і визначається за позитивними результатами гібридизації. Результати споліготипування подаються у вигляді цифрового стандартизованого вісімкового коду, що сприяло створенню міжнародної бази даних, які містять нині тисячі споліготипів з майже усіх регіонів земної кулі [18; 19]. Сукупність споліготипів 62 ліній *M. tuberculosis* представлена у базі даних SpolDB4 (Fourth International Spoligotyping Database, <http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVITDemo>), де наведені 1939 споліготипів, отриманих при вивченні 39 295 штамів *M. tuberculosis* зі 122 країн.

Проте чутливість методу споліготипування виявилася недостатньою, особливо у регіонах з більш гомогенними популяціями штамів *M. tuberculosis* [20].

VNTR-типсування має більшу роздільну здатність, особливо для філогенетичних досліджень. Метод базується на визначенні кількості тандемних повторів мінісателітної ДНК, що розміщені у різних локусах мікобактеріальної хромосоми. Геномний

аналіз штаму H37Rv виявив 41 незалежний локус тандемних повторів. Ці локуси дістали назву MIRU (мікобактеріальні розсіяні повторювальні одиниці). У вихідному варіанті технології VNTR-типсування мікобактерій використали 5 локусів (ETR-A, -B, -C, -D та -E) [21]. В останні роки були запропоновані інші системи VNTR-типсування з використанням 12, 15 і більшої кількості локусів [22]. Результати дослі-

Таблиця 7.1

Найбільш розповсюджені методи молекулярного типсування штамів *M. tuberculosis* [4]

Характеристика методу	IS6110RFLP	Споліготипування	MIRU-VNTR	Дослідження LSP	Дослідження SNP
Роздільна здатність	Висока	Від доброї до низької	Висока	Низька	Низька, але очікується підвищення
Складність використання	Технічно складний, довготривалий, потребує великої кількості ДНК	Швидкий та простий, можливе дослідження клінічних зразків	Швидкий та відносно простий	Простий та трудомісткий	Швидкий та відносно простий. Високопродуктивний аналіз потребує сучасного обладнання
Інтерпретація	Проста, але стандартизація ускладнена	Проста, візуальна	Проста, візуальна	Пряма	Пряма
Обмін результатами	Складний. Відсутність стандартизованої номенклатури	Прямий, стандартизована бінарна чи вісімкова номенклатура	Пряма, стандартизований цифровий код	Пряма, стандартизована номенклатура	Пряма, стандартизована номенклатура
Ефективність для епідеміологічних досліджень	Висока	Корисна для швидкої кластеризації, але потребує подальшого підтвердження	Висока	Недостатня у зв'язку з низькою роздільною здатністю	Недостатня
Ефективність для філогенетичного аналізу	Обмежена нерегулярною частотою транспозицій та існуванням ділянок переважної інсерції	Відносно добра кореляція з результатами філогенетичного дослідження, що базується на SNP, але великі за розміром делеції можуть обумовлювати відхилення результатів	Відносно погана кореляція з результатами дослідження SNP	Корисне для визначення еволюційних напрямків та ідентифікації головних ліній	«Золотий стандарт», низька частота SNP у <i>M. tuberculosis</i> потребує широкомасштабного секвенування штамів для визначення інформативних SNP

дження представляють у вигляді цифрового коду. Генотипування за більшою кількістю локусів набагато підвищує чутливість та роздільну здатність методу і наближає їх до методу ПДРФ, але тим же часом призводить до прогресивного збільшення витрат праці, часу та коштів. Оптимізація типування за 12 локусами була досягнута за рахунок автоматизованого обліку розмірів фрагментів ДНК і кількості повторів у них за допомогою ДНК-секвенаторів [22].

Визначення великих хромосомних делецій (Large Sequence Polymorphism, LSP) у мікобактеріальній хромосомі за допомогою мікрочипів (microarray) або real-time ПЛР [23] дозволило класифікувати штами *M. tuberculosis* на окремі лінії. Оскільки рекомбінаційні події у мікобактерій є рідкісними [24; 25], усі нащадки батьківського штаму несуть отриману делецію, що є корисним при конструюванні генетичного дерева *M. tuberculosis*. Визначення LSP дозволяє також встановлювати клональну спорідненість штамів, що відрізняються за споліготипами або ПДРФ патернами [26; 27].

Найбільш ефективними методами молекулярного аналізу є визначення однонуклеотидного поліморфізму (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) та секвенування мікобактеріальної хромосоми [28]. Синонімічні однонуклеотидні заміни не змінюють амінокислотної послідовності та вважаються нейтральними маркерами походження. Їх визначення сьогодні не є рутинним при популяційно-епідеміологічних дослідженнях, але з розвитком сучасних технологій цей метод стає все більш доступним (табл. 7.1).

Впровадження сучасних молекулярних методів змінило уявлення про еволюційний сценарій *M. tuberculosis*. Шляхом аналізу синонімічних нуклеотидних варіацій припускають, що анцестральні бацили туберкульозу виникли в Африці близько 3 млн років тому, і, таким чином, вражали предків сучасної людини з давніших часів, ніж вважалося раніше [29].

На підставі однонуклеотидного поліморфізму кодону 463 гена *katG* (фермент каталаза-пероксидаза) та кодону 95 гена

gyrA (субодиниця А ферменту ДНК-гірази) виділені три принципові групи мікобактерій [16]: група 1 з *katG*463 CTG (Лей) та *gyrA*95 ACC (Тре); група 2 з *katG*463 CGG (Апр), *gyrA*95 ACC (Тре); група 3 з *katG*463 CGG (Апр), *gyrA*95 AGC (Сеп). *M. microti*-, *M. africanum*-, *M. bovis*-подібні за генами *katG* та *gyrA* до *M. tuberculosis* групи 1 [1; 3].

Методом геномної гібридизації було виявлено три регіони RD1, RD2 та RD3 (region of difference), що відрізняються між *M. bovis*, *M. tuberculosis* і авірулентним *M. bovis* штаму БЦЖ [30]. RD1, відсутній у авірулентного БЦЖ штаму, містить важливі гени вірулентності, включаючи ESX-1 систему протеїнової секреції, антигени ESAT6 та CFP10, що знижують імунну відповідь. За допомогою штучних бактеріальних хромосом RD дослідження [31] H37Rv штаму показало наявність 10 регіонів відмінності між *M. tuberculosis* та *M. bovis* (RD1–RD10), 7 з яких (RD4–RD10) делетовані у *M. bovis*. Методом диференційної гібридизації визначено 14 RD розміром від 2 до 12,7 т. п. н., відсутніх у БЦЖ родинних штамів до *M. tuberculosis* H37Rv. Паралельно виявлені H37Rv делеції (RvD) 1–5 і специфічна для *M. tuberculosis* делеція 1 (TbD1, 2 т. п. н.). Так, RD-регіони включають три принципові групи послідовностей, кожна з яких є відмінним еволюційним маркером. Перший тип містить мобільні генетичні елементи, такі як профаг *phiRv1*(RD3) або інсерційні послідовності IS1532(RD6) та IS6110(RD5), розподіл яких у геномі значно варіює. Другий тип обумовлений гомологічною рекомбінацією між сусідніми IS6110 інсерційними елементами, що зумовлює втрату сегментів ДНК (RvD2–RvD5), і варіює між штамми. Третій тип включає делеції, що відбуваються у кодуючих ділянках гена, та, ймовірно, зумовлені помилками ДНК-полімерази. Цей тип делецій обумовлює інактивацію генів у одних штамів, тимчасом як у інших штамів ці гени залишаються інтактними (RD1, RD2, RD4, RD7–14, TbD1) [1; 27; 32].

Генетичний аналіз дозволив сконструювати еволюційне дерево для *M. tuberculosis*

(рис 7.2) [32]. По-перше, було спростовано початкову гіпотезу, що попередником антропоозоного збудника *M. tuberculosis* був збудник зоонозу *Mycobacterium bovis*. Порівняльний геномний аналіз виявив, що геном *M. bovis* менший за розміром, ніж *M. tuberculosis*. Втрата генів *M. bovis* свідчить, що це молодший, ніж *M. tuberculosis*, патоген, і, таким чином, людський туберкульоз передував бичачому.

За наявністю або відсутністю TbD1 регіону штами *M. tuberculosis* поділяють на анцестральні TbD1-позитивні та сучасні TbD1-негативні штами. RD9 делеція визначає еволюційну лінію *M. africanum*, *M. microti* та *M. bovis*, що відокремилися від попередника сучасного штаму *M. tuberculosis* до виникнення TbD1 делеції. Делеційний патерн *M. africanum* більш набли-

жається до патерну *M. tuberculosis*, ніж *M. bovis*. Оскільки *M. canettii* та інші анцестральні штами *M. tuberculosis* не мають делецій, їх можна вважати безпосередніми потомками мікобактерії, що існувала до відокремлення лінії *M. africanum* — *M. bovis* від лінії *M. tuberculosis* [32].

Молекулярні дослідження (ПДРФ, споліготипування, MIRU-VNTR) дозволили виявити існування шести принципових філогеографічних ліній (табл. 7.2), кожна з яких асоційована зі специфічною симпатричною людською популяцією [1; 3; 33]. Представниками генетичної групи 1 є східноафрикансько-індійська родина (East African-Indian, EAI), родина Beijing та центральноазіатська родина (Central-Asian, CAS). Останню, на підставі аналізу MIRU та споліготипів, можна вважати предковою

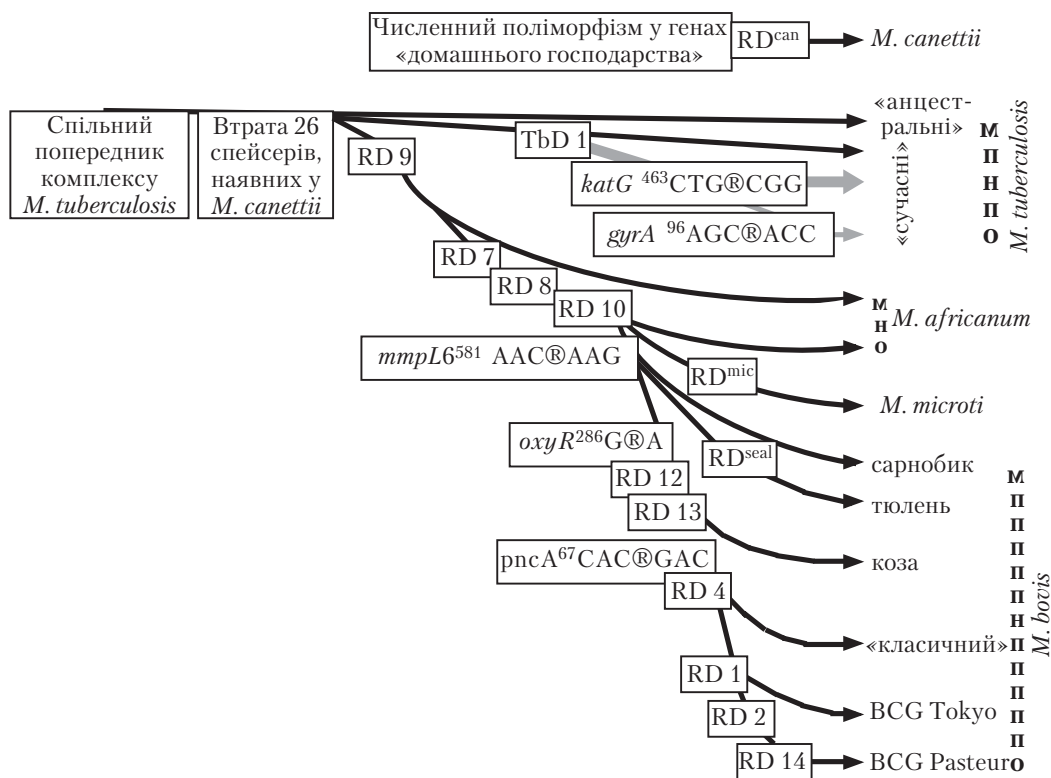


Рис. 7.2. Схема ймовірного еволюційного розвитку туберкульозної бацили, що базується на послідовних мутаціях ДНК певних ліній [32] та наявності або відсутності консервативних ділянок і поліморфізмі послідовностей у п'яти генах

Таблиця 7.2

Характеристика принципових філогеографічних ліній *M. tuberculosis*

Філогеографічна лінія	IS6110 копії	Споліготиби	VNTR	Географічне розповсюдження
Східноафрикансько-індійська, EAI	Мала кількість IS6110 копії	Відсутність спейсерів 29–32, наявність спейсера 33, відсутність спейсера 34	Кількість прямих тандемних повторів A (ETR-A) алеля i4	Південно-Східна Азія, Індія, Східна Африка
Beijing	Інсерція IS6110 у точці початку реплікації (<i>oriC</i>) між генами <i>dnaA</i> та <i>dnaN</i> ; одна чи дві інсерції IS6110 у хромосомному регіоні NTF. Штами Beijing характеризуються однією інсерцією, W-мультирезистентні штами мають дві протилежно орієнтовані вставки	Відсутність спейсерів 1–33, наявність 34–43	Профіль 42435	Східна Азія, Китай, Японія, Росія
Центрально-азіатська (CAS) чи Делі	Характерна пара ліній у високомолекулярному регіоні (12,1 та 10,1 т. п. н.)	Відсутність спейсерів 4–27 і 23–34	Профіль 42235	Судан та інші країни регіону Сахари, Пакистан, Індія
Harlem	Подвійна лінія 1,4 т. п. н.	Відсутність спейсера 31 завдяки наявності додаткової копії IS6110 у DR-регіоні	3323	Північна Європа, Карибський регіон, Центральна Африка, де розповсюдження цієї лінії пов'язують з європейською колонізацією
Латиноамериканська та родина Mediterranean (LAM)	—	Відсутність спейсерів 21–24	Наявність двох ETR-A алелей	Країни Середземноморського басейну, Латинської Америки
X родина	Мала кількість IS6110 копій	Відсутність спейсера 18		Англосаксонські країни, Південна Африка, Карибський басейн

для родини Beijing [34]. Генетична група 2 включає родини Harlem; LAM (Latin American and Mediterranean); X. Harlem і LAM родини є генетично різноманітними, складними та потребують подальших досліджень для розуміння їх еволюційної історії. Так, виникає питання, чи пов'язано

розповсюдження штамів LAM у Латинській Америці з її колонізацією, чи, навпаки, штами цієї родини були завезені в Середземноморський регіон іспанцями з Латинської Америки. Штами, які складно зарахувати до жодної з перелічених груп, поєднані в групу T (генетичні групи 2 та 3).

Для них характерна відсутність спейсерів 33–36 і мутації гена *pks* 15/1. Ген *pks* 15/1 кодує фермент полікетидсинтазу, що бере участь у метаболізмі ліпідів для побудови клітинної стінки. Усі сучасні штами мають делецію розміром 7 п. н., яка зумовлює зсув рамки зчитування та виключення активності гена. *M. canettii*, більшість штамів принципової генетичної групи 1, EAI та штами Beijing характеризуються наявністю двох додаткових амінокислот, які не впливають на функцію *pks*.

На підставі LSP S. Gagneux також виділив 6 основних груп *M. tuberculosis*. Географічне розповсюдження певних ліній пока-

зує стійку асоціацію між штамами мікобактерій та популяціями їх хазяїв (рис. 7.3). Показано, що у Сан-Франциско у хворих на туберкульоз китайців виділяються східноазіатські штами, у філіппінців — індо-океанічні, проте в обох групах майже не трапляються євро-американські штами [3]. Таким чином, *M. tuberculosis* характеризується клональною популяційно-генетичною структурою. Штамо-специфічні відмінності у вірулентності та імуногенності, ймовірно, віддзеркалюють філогеографічні особливості *M. tuberculosis*, а їх аналіз надає нові можливості щодо контролю захворювання.

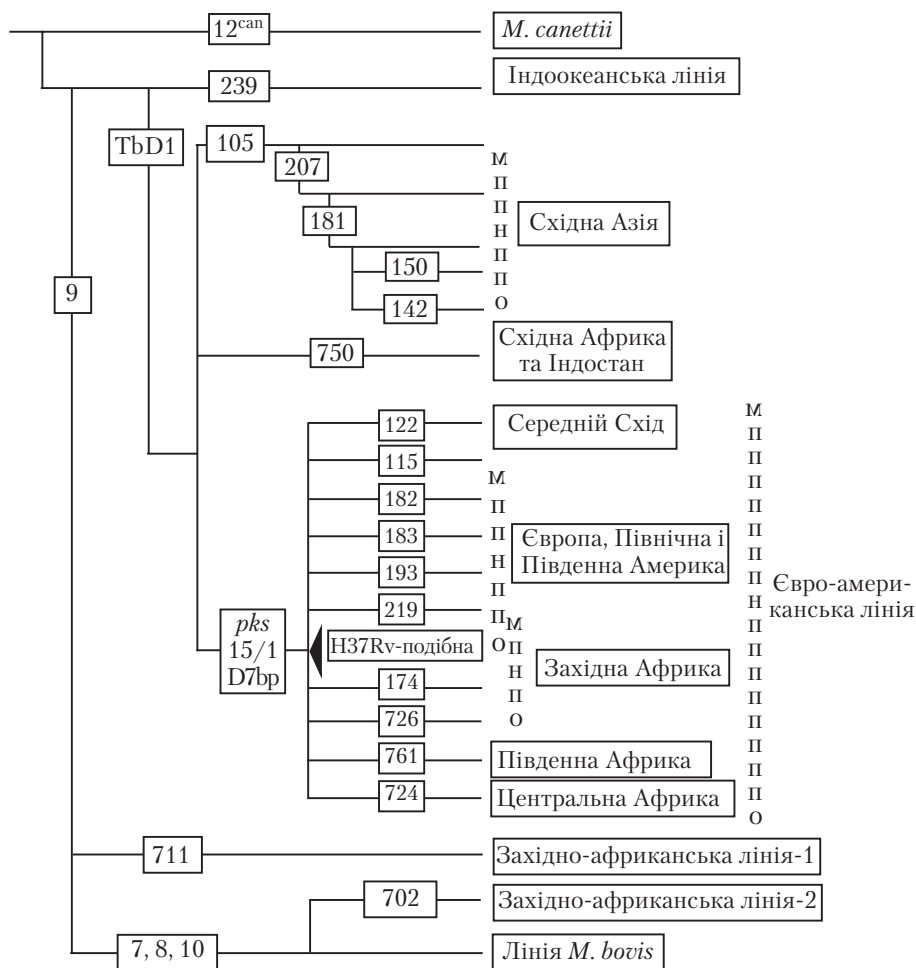


Рис. 7.3. Філогенетичний розвиток *M. tuberculosis* на основі LSP поліморфізму. Вказані LSP або RD, на підставі яких виділені певні лінії, та географічні регіони, з якими вони асоціюються [33]

Використання молекулярно-генетичних методів з метою визначення циркулюючих у певних регіонах штамів є одним із головних напрямків в молекулярній епідеміології туберкульозу. Так, проведені в Росії дослідження виявили переважання в Східному Сибіру двох генетичних груп: Beijing (більше 50 %) і Harlem 4 (близько 15 %) і дали підстави зробити висновок про активні процеси генотипоутворення цих груп у регіоні [35]. Штами, що циркулюють на території України, майже не досліджувалися з точки зору молекулярної епідеміології. Споліготипування дозволило виявити значну різноманітність генотипів, що циркулюють в Одеській та Миколаївській областях України. В Одеській області профілюючим виявився патерн, характерний для збудників родини Beijing (39,6 %), Harlem 2, T, LAM та ін. У Миколаївській області розповсюдженість штамів родини Beijing була вдвічі меншою і дорівнювала 17,5 %. Близько 20 % генотипів штамів, що циркулюють в обох об-

ластях, класифікувати методом споліготипування не вдалося [36; 37]. У Харківському регіоні виявлено переважання штамів родини Beijing (32 %) і LAM (24 %) у хворих із тяжкими формами туберкульозу [38].

З точки зору практичної медицини, надзвичайно важливим є визначення асоціації між генетичною родиною збудника та клінічними особливостями перебігу захворювання (рис. 7.4) [39, 40]. У різних штамів *M. tuberculosis* виявлена різна експресія 527 генів (15 % від загальної кількості досліджених) [41], зокрема генів Т-клітинних антигенів, ліпідного метаболізму, сімейства PE/PPE та інших, що, у свою чергу, обумовлює відмінності у патогенезі і, відповідно, в клінічних проявах захворювання. Вивчення генотипів мікобактерій дозволило встановити, що деякі родини, зокрема штами Beijing, домінують у багатьох географічних регіонах, тому можна зробити висновок про еволюційну успішність цього штаму. Успішність родини

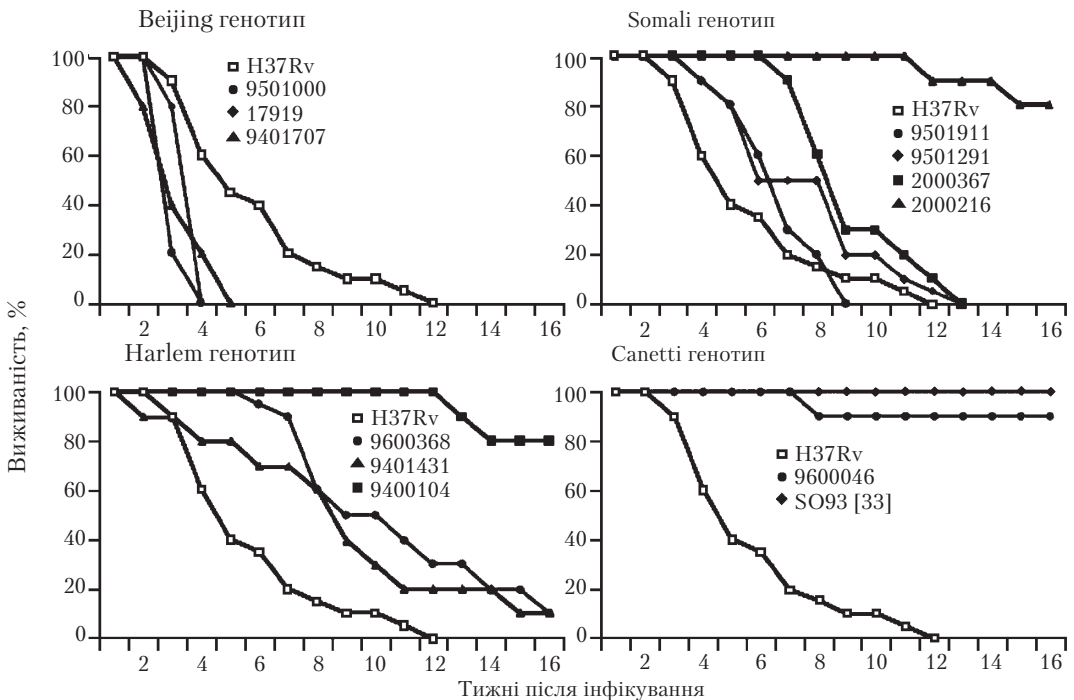


Рис. 7.4. Вживаність мишей лінії BALB/c, інфікованих шляхом інтратрахеального введення збудників туберкульозу ($2 \cdot 10^5$ бактерій), що належать до різних генетичних родин [40]

Beijing, перш за все, може бути пов'язана з відмінностями в його імуногенності. Дослідження, проведені на мишах, показують відмінну експресію цитокінів, зі зниженням продукції IL-2, який відповідає за активацію макрофагів і запуск синтезу IFN γ , зменшення продукції TNF α , підвищення експресії IL-10, який гальмує імунну відповідь, пригнічуючи синтез інтерферонів [42]. Низький рівень IFN γ обумовлює недостатній рівень активації макрофагів і високу життєздатність збудника в них. Особливості збудника, що обумовлюють такий результат інфікування, поки що остаточно не ідентифіковані, але активно вивчаються потенційні кандидати, одним з яких є фенольний гліколіпід PGL-tb. Цей гліколіпід продукується гіпервірулентними для мишей штамами Beijing (W4, W10, 210), у дослідженнях *in vitro* пригнічує виділення протизапальних цитокінів макрофагами, а делеція генної ділянки *pks* 1-15, необхідної для синтезу PGL-tb, приводить до зникнення гіпервірулентного фенотипу [43].

Секвенування гена *ppe44* штаму Beijing, на відміну від інших головних філогенетичних ліній *M. tuberculosis*, виявило нуклеотидні заміни, які обумовлюють його підвищену експресію [44]. Функція білків родини PPE вивчена недостатньо, але передбачається, що вони мають певне значення в антигенній варіабельності, дозволяючи мікобактеріям маскуватися від знищення імунною системою хазяїна [45]. Підвищена здатність до виживання може бути пов'язана з групою генів (регулон з 48 генів), контролюваних фактором транскрипції DosR, експресію якої викликає нестача кисню (як і NO). Ці гени беруть участь у забезпеченні анаеробного дихання і ліпідного метаболізму, необхідні на стадії латентної інфекції і, ймовірно, хронічної фази активного туберкульозу [46].

У мікобактерій Beijing відмічена підвищена експресія багатьох з цих генів, аж до 50-разової різниці в базовому рівні транскрипції порівняно з *M. tuberculosis* інших родин [47]. Мікобактерії родини Beijing також здатні активно акумулювати триацилгліцериди (TAG), які при нестачі поживних речовин гідролізуються, забезпечуючи мікобактерій вуглицем й енергією як за

відсутності кисню, так і у разі агресивної імунної відповіді хазяїна [48]. Ген ферменту TAG-синтази входить до складу DosR-регулона, вміст транскрипту цього гена у стандартних умовах культивування у штамів Beijing у 10 разів більший порівняно з іншими родинами [47]. Здатність до нагромадження TAG в умовах, коли збудники інших родин їх не нагромаджують, дає родині Beijing додаткові переваги при трансмісії і персистуванні в організмі хазяїна. Інфікування штамми родини Beijing асоціюється з невдалим лікуванням та рецидивами туберкульозу [49; 50], втричі вищим ризиком розвитку позалегеневого туберкульозу [51], гарячкою на початку лікування. Туберкульозний менінгіт, обумовлений збудниками цієї родини, асоціюється із скороченим терміном до початку захворювання та зниженим рівнем лейкоцитів у цереброспінальній рідині [43].

Проведений нами аналіз результату захворювання у групах хворих, інфікованих збудником родини Beijing, виявив, що серед хворих, від яких були отримані ізоляти родини Beijing, смерть від туберкульозу (23,8 %) спостерігалася достовірно частіше, ніж у хворих, інфікованих збудниками інших генетичних родин (3,2 %; RR 7,4; CI 1,55–35,24), що дозволяє вважати інфікування цим штамом одним із факторів несприятливого перебігу захворювання (OR 3,74; CI 1,12–12, 52) [52].

Існує гіпотеза, що успішність родини Beijing пов'язана з відсутністю ефективності БЦЖ-вакцинації проти мікобактерій цієї родини. Якщо прийняти цю гіпотезу, то в майже повністю вакцинованій популяції України можна очікувати на зростання кількості випадків захворювання, обумовлених штамми Beijing. Оскільки представники цієї родини характеризуються підвищеною трансмісивністю та резистентністю до протитуберкульозних препаратів, це може стати серйозною проблемою в лікуванні та контролі туберкульозу.

Поєднання методів молекулярної епідеміології з соціологічним аналізом дало нові можливості при вивченні спалахів туберкульозу. Аналіз IS6110 ПДРФ змінив традиційний погляд, згідно з яким не більше ніж 10 % випадків туберкульозу є наслідками

недавньої трансмісії, що дало надію на значне зменшення захворюваності шляхом адекватного контролю та запобігання активній трансмісії [53; 54]. У Нідерландах, де генотипування *M. tuberculosis* широко використовується з 1993 р., молекулярно-генетичний аналіз дозволив встановити епідеміологічні зв'язки у 24 % випадків і показав можливість існування зв'язку ще в приблизно у 20 % випадків захворювання [55]. У США (Нью-Йорк і Сан-Франциско) генетично ідентичні лінії інфекції становлять від 16 до 46 % усіх нових випадків туберкульозу [53]. Цікавим виявився результат роботи, проведеної в Південній Африці, де при дослідженні хворих з однієї родини тільки у 46 % (із 313) випадків у межах однієї родини були виявлені генетично подібні ізоляти [56], що вказує на роль позародинних контактів та дозволяє встановити місця можливих контактів (тюрми, бари, лікарні, магазини тощо). Використання методів молекулярної епідеміології дозволило також виявити фактори ризику трансмісії туберкульозу. Так, в Одеському регіоні фактором ризику для

інфікування штамми генотипу Beijing виявилися перебування в місцях позбавлення волі, мешкання в місті та вживання наркотиків [36; 52].

Методи генотипування дозволили встановити роль реінфекції та реактивації в розвитку рецидивів туберкульозу, показавши важливу роль екзогенної реінфекції.

Немає сумнівів, що при дослідженні епідеміології такої складної інфекції, як туберкульоз, для виявлення ключових аспектів взаємодії паразита і хазяїна та створення нових засобів лікування й профілактики необхідний системний підхід (рис. 7.5) [57]. Геноміка надає нові можливості для вивчення багатьох біологічних, середовищних і соціальних аспектів туберкульозу. Так, важливу інформацію для виявлення значущих стосовно туберкульозу мутацій може надати сканування геному людини. Транскриптоміка, яка базується на аналізі сукупності РНК-транскриптів (РНК-секвенування, RNA-seq), є сучасним методом, що швидко розвивається і дозволяє вивчати як клітини хазяїна, так і патогену. Так, РНК-секвенування дозволило

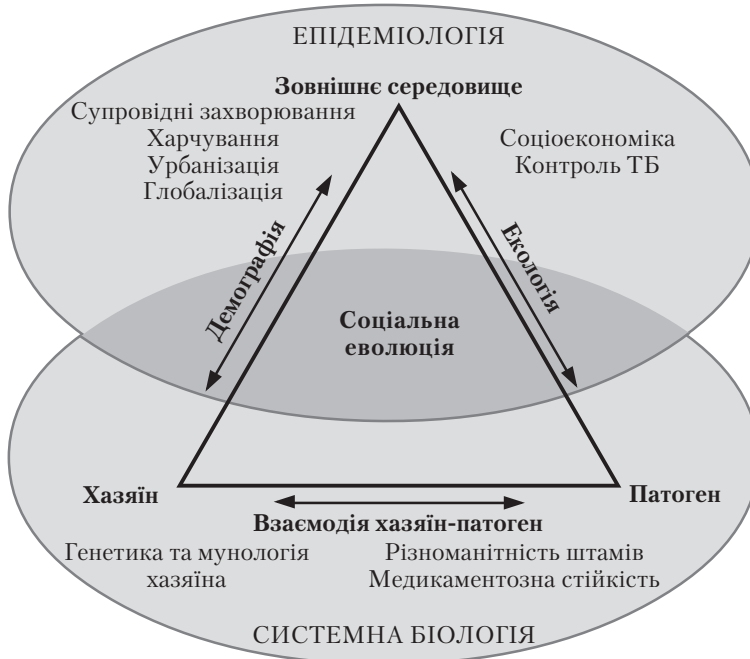


Рис. 7.5. Ключові аспекти взаємодії «хазяїн-патоген» при туберкульозній інфекції [54]

виявити малі регуляторні РНК у *M. tuberculosis* [58; 59].

Сучасна стратегія лікування і контролю туберкульозу базується на концепції однакової вірулентності та трансмісивності усіх штамів *M. tuberculosis*. Врахування особливостей системи паразит — хазяїн за певних умов дозволить підвищити не тільки ефективність лікування хворих, але і контроль епідеміологічної ситуації.

7.2. Молекулярна епідеміологія ВІЛ

Найбільш важливим патогеном ХХ ст. є ВІЛ. Незважаючи на швидке з'ясування епідеміології захворювання, виявлення самого агента і визначення способів запобігання його поширенню, а також розробку ефективних діагностичних тестів і способів антиретровірусного лікування, ВІЛ-інфекція продовжує свій глобальний наступ [60–63]. Ефективний контроль, здійснюваний органами охорони здоров'я, є дуже важливим; це дозволяє тримати у полі зору провідні дослідження і визначати напрямки профілактичної роботи. Труднощі полягають у тому, що ВІЛ екстенсивно мутує. Деякі з дивергентних штамів ВІЛ-1 не виявляються з достатньою надійністю при серологічних тестах. Тому надзвичайної актуальності набувають питання дослідження мутацій та генетичної розмаїтості ВІЛ у зв'язку із потребою розширити систематичний загальний контроль й уточнити стратегію боротьби з інфекційними хворобами, що з'являються.

Вірус імунodefіциту людини входить у підродину ретровірусів, які називають лентівірусами; він викликає в носія хронічну інфекцію, руйнуючи його імунну систему. У людини виявлені два основних типи: ВІЛ-1, що частіше рееструється у хворих в Європі та Північній Америці, та ВІЛ-2, що здебільшого трапляється в людей, які живуть у Західній Африці [64]. Існують відповідні віруси, що інфікують мавп, з'явилися повідомлення про випадки міжвидових заражень [65].

R. Trujillo et al. (2007) установили, що вибірковість ВІЛ-1 стосовно специфічних типів клітин є регульованою за допомогою взаємодії між вірусною оболонкою і клітинними рецепторами [66]. Коли ВІЛ проникає в клітину за допомогою CD4 та інших хемокінових рецепторів, які специфічно взаємодіють з gp120 оболонки вірусу, то його «поведінка» у клітині стає іншою — він починає реплікуватися, активно використовуючи ресурси клітини, тобто «перетворюється» у паразита.

Генетичне варіювання ВІЛ дуже різноманітне (рис. 7.6). Існує безліч «квазівидів» родинних, але все-таки неподібних варіантів ВІЛ. Родинні штами відрізняються генетичною подібністю відповідно до послідовності складових нуклеотидів. На основі аналізу послідовностей генів *env*, *gag* і *pol* виявлена серія підтипів ВІЛ-1, що позначаються як А, В, С, ... Н, і складова група М. Виділена також група О, що складається з інших штамів ВІЛ-1; ВІЛ-2 також філогенетично розбитий на підтипи [62].

Поділ ВІЛ на підтипи є тимчасовим, оскільки охоплює тільки ті ізоляти, що вда-

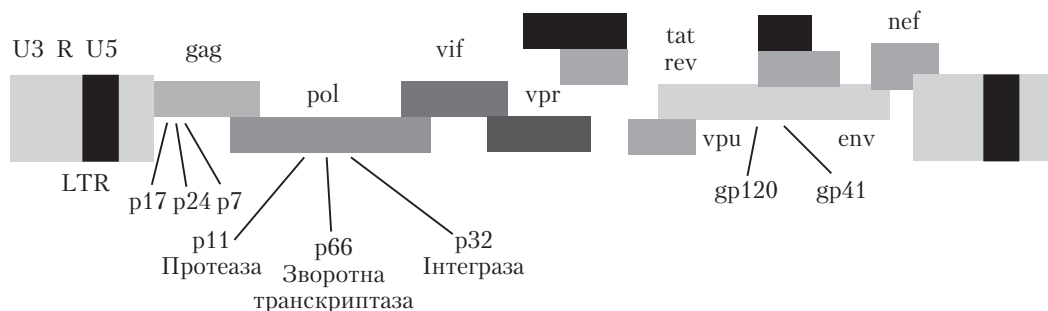


Рис. 7.6. Схема організації геному вірусу імунodefіциту людини

лося зібрати та ідентифікувати. Важко сказати, в якій мірі ці ділянки геному віддзеркалюють вірусну еволюцію. Розрізнення варіантів ВІЛ утруднено можливою наявністю супровідної інфекції та генетичною рекомбінацією між різними вірусними штамми.

Існуючі класифікації модифікуватимуться зі збільшенням кількості ідентифікованих вірусних ізолятів. Останнім часом вдалося зібрати інформацію про процентне співвідношення різних підтипів ВІЛ-1 (база даних зі СНІДу і ретровірусів, Національна лабораторія, Лос-Аламос) [67]. У Центрі контролю і профілактики (CDC) захворювань аналізуються великі колекції зразків крові, узятих у жителів США, з метою виявлення підтипів ВІЛ-1, відмінних від підтипу В. При ВООЗ була організована система для виявлення та ідентифікації ВІЛ-ізолятів, призначена для збирання ВІЛ-ізолятів з окремих країн для поточного контролю генної й антигенної їх різноманітності з метою розробки вакцини проти ВІЛ. Молекулярно-епідеміологічні дослідження підтипів ВІЛ проводяться в багатьох регіонах зі швидким розповсюдженням ВІЛ. Завдяки їм було виявлено декілька штамів ВІЛ у Східній Європі, Таїланді, Індії, Бразилії і Китаї [68].

Географічний розподіл відомих підтипів ВІЛ не повністю вивчено, однак інформація про дивергентні штами групи О є ще більш неповною. Таким чином, безсумнівно є важливість посилення контролю за різними штамми ВІЛ [69]. Велика генетична розмаїтість ВІЛ істотно позначається на чутливості та специфічності діагностичних тестів. Активний загальний контроль та ідентифікація штамів ВІЛ, що найчастіше трапляються, є основою оцінки чутливості тестів на ВІЛ у клінічній практиці та при проведенні наукових досліджень.

Типові масові обстеження залишаються головним заходом загального контролю та виявлення варіантних штамів ВІЛ. Традиційні скринінг-тести на антитіла й антигени ВІЛ дозволяють виявляти більшість випадків ВІЛ-інфекції й розрізняти ВІЛ-1 і ВІЛ-2, але не їх підтипи. Серологічні ме-

тоди, специфічні щодо підтипів, можуть бути корисні для первинного їхнього виявлення [63].

Відносна легкість виявлення антитіл, специфічних для підтипів, робить цей метод корисним доповненням до інших тестів. Генні зонди, специфічні до підтипів, рестрикційний аналіз на поліморфізм довжини фрагментів можуть полегшити завдання тимчасового поділу на підтипи численних ізолятів ВІЛ. Однак кінцевим етапом процесу ідентифікації вірусів є генне секвенування [70] — складний метод, який опанували лише деякі наукові центри на теренах країн СНД.

На додаток до поточного контролю розподілу підтипів ВІЛ мережа загального контролю дозволяє визначити потреби в наукових дослідженнях і є основою їхнього проведення. Молекулярна епідеміологія допомогла з'ясувати аспекти передачі інфекції на місцевому, національному та міжнародному рівнях. Після ідентифікації генотипні розходження між ізолятами можуть використовуватися для вивчення шляхів передачі інфекції у конкретній місцевості та встановлення епідеміологічного зв'язку між випадками. Сьогодні між ВІЛ-1 і ВІЛ-2 виявлені очевидні розходження у передаванні вірусних штамів. Так, були визначені більш низькі індекси передачі від матері до дитини для ВІЛ-2, ніж для ВІЛ-1 [71], так само як і менші індекси передачі статевим шляхом. Існує припущення про вибіркиму передачу материнських варіантів ВІЛ-1 і про неоднакове передавання двох різних підтипів ВІЛ при статевому контакті [72].

Останнім часом отримані докази зміни потенціалу патогенності різних штамів ВІЛ, що пов'язано зі специфічними змінами генетичної послідовності. Був показаний зв'язок швидкого розвитку хвороби з певними вірусними типами. Встановлено, що патогенний потенціал вірусних штамів може передаватися. Серйозну проблему становлять також резистентні до ліків штами ВІЛ [73]. Таким чином, створення майбутньої вакцини вельми залежить від ретельного контролю й ідентифікації вірусних варіантів.

Із поліпшенням розуміння значення різних генотипів і фенотипів ВІЛ знання частоти їх зустрічальності та розподілу відіграватиме важливу роль в організації своєчасної й ефективної боротьби з пандемією ВІЛ. Доцільним є створення глобальної мережі загального контролю з метою спостереження за молекулярною епідеміологією ВІЛ шляхом систематичного збирання ізолятів репрезентативних штамів ВІЛ у різних групах населення з різними факторами ризику передачі інфекції, що могло б полегшити розуміння генетичної розмаїтості ВІЛ і дозволити найбільш правильно узагальнювати результати. Велике значення має використання алгоритмів ефективних лабораторних досліджень з метою виявлення більш дивергентних штамів у групах населення, де проводиться вибірка.

Інший елемент загального контролю містить у собі поточну оцінку результатів масових обстежень із використанням ретельно підібраних репрезентативних наборів сироваток від осіб, інфікованих географічно та генетично різними штамми. Ці стандартизовані набори сироваток можуть бути корисними для оцінки, підтримки на потрібному рівні та підтвердження чутливості діагностичних тестів на ВІЛ.

Нарешті, важливе значення має регулярний обмін інформацією, що дозволить дослідникам перевіряти результати своєї роботи і визначати ступінь пріоритетності нових сфер контролю. Разом із виникненням нових технічних прийомів буде удосконалюватися стратегія загального контролю, успішність якого залежить від скоординованих зусиль клініцистів, співробітників лабораторій і епідеміологів. Прикладом такої координації можуть служити результати дослідження російських і американських фахівців [74]. У цій роботі субтипи ВІЛ-1, що циркулюють у гомосексуальній та гетеросексуальній популяціях, визначалися за допомогою серотипування із синтетичними пептидами і секвенування. Серотипування показало, що гомосексуальна популяція інфікована в основному північноамериканським субтипом В, тимчасом як гетеросексуальна популяція де-

монструвала більш широку реактивність (А, В, С, D, Е). Секвенування підтвердило, що серед інфікованих гомосексуалістів присутній субтип В. Серед інфікованих жінок були присутні в основному африканські субтипи ВІЛ-1. Ці дані підтвердили раніше висловлену гіпотезу (Kozlov et al., 1993), що було два шляхи проникнення вірусу в Росію [75]. Перший шлях — гетеросексуальний — від іноземних (в основному африканських) студентів до жінок, другий — гомосексуальний — через контакти із американцями і/або європейцями. Субтип В поширюється у Санкт-Петербурзі швидше, тому що більшість інфікованих — гомосексуалісти, хоча проникнення африканських субтипів могло відбутися раніше, оскільки багато африканських студентів, у т. ч. з ендемічних районів, навчалися у Ленінграді, починаючи з 60-х років ХХ ст. Подібні дослідження проводилися і в Україні.

7.3. Молекулярна епідеміологія вірусних гепатитів

Цікаві відомості одержані останнім часом щодо молекулярної епідеміології вірусних гепатитів. Вірусний гепатит А є однією з найбільш поширених у світі інфекцій. Нині у країнах Європейського Союзу завдяки підвищенню якості стандартів життя та санітарного стану населених пунктів вдалося значно зменшити захворюваність на цю патологію. Нещодавно у Португалії [76] було проведено дослідження молекулярної епідеміології вірусного гепатиту А, який сьогодні трапляється переважно серед португальських циган. Встановлено, що у хворих виявлявся І генотип, причому 73,3 % хворих мали субгенотип ІА і 26,7 % — субгенотип ІВ.

У дослідженні норвезьких вчених [77] встановлено, що серед активних гомосексуалістів у країнах Європи дуже часто виявляється генотип ІА (кластер VP1/P2A). Пояснення цьому факту вчені не дають, проте відомо, що вірус цього кластеру вкрай рідко виділяється у загальній популяції.

У роботі фахівців Центру контролю за захворюваннями (Centers for Disease Control) молекулярні підходи було використано для з'ясування джерела епідемії гепатиту А у 2005 р. [78]. Як виявилось, спалах був пов'язаний із споживанням устриць, що й було підтверджено молекулярно-генетичними методами.

Циркуючі у світі штами вірусу гепатиту В (HBV — hepatitis B virus) неоднорідні за своїми генетичними характеристиками. Нині описано 9 генотипів вірусу гепатиту В: А, В, С, D, E, F, G, H і w4B [79]. Патогенетичні та терапевтичні розходження між генотипами HBV-вірусу раніше були документовані, однак залишалася незрозумілою асоціація вірусологічних характеристик із клінічними проявами генотипів. З цієї метою J. H. Kao et al. [80] вивчили клініко-вірусологічні характеристики донорів крові з Тайваню, інфікованих В-і С-генотипами. Генотипи були визначені серед 300 донорів крові з позитивним поверхневими HbsAg, серед яких 10 % мали підвищені рівні трансаміназ, 27 % були позитивними за HbsAg антигеном і ще 50 (16,6 %) осіб — з негативним HbeAg. Розподіл HBV-генотипів серед 264 носіїв вірусу такий: В — 221 (83,7 %), С — 39 (14,8 %), F — 1 (0,4 %) і мікст-генотипи — 3 (1,1 %). Донори з генотипом С були схильні мати більш високу частоту позитивного HbeAg і високий рівень ДНК у крові порівняно з генотипом А. Водночас частота мутацій у рс-регіоні геному виявилася значно вищою в HbeAg-негативних донорів, ніж при позитивному HbeAg, незалежно від виду генотипу. На противагу цьому, при генотипі С відзначалася рідкісна мутація в рс-регіоні серед популяції Тайваню.

В останні роки детально вивчена послідовність нуклеотидів у геномі вірусної частинки й уточнені гени, що кодують певні білки вірусу [80]. Так, встановлено, що ДНК HB-вірусу містить у собі 4 гени (S, C, P і X), які перекривають один одного. Ген S складається з трьох зон (Pre-S1, Pre-S2, S-гена) і несе інформацію про HBsAg і рецептори, що знаходяться на поверхні; вони необхідні для проникнення вірусу в гепатоцит. Ген C (сor) складається з двох

зон (Pre-C1 і власне С-гена), кодує білок нуклеокапсиду, тобто білок серцевини і його антигени (HBcAg і HBeAg). Ген Р кодує фермент ДНК-полімераза. Ген Х кодує білок, що активує експресію генів HB-вірусу. Ця інформація має важливе практичне значення, оскільки в останні роки встановлено, що в тій або іншій зоні геному під дією різних факторів, що уточнюються, можуть відбуватися точкові мутації. Це обумовлює серологічний профіль маркерів, що не укладається в звичайне трактування результатів, і клінічний перебіг HBV-інфекції. Наприклад, описані спалахи HBV-інфекції, коли у сироватці крові виявлявся тільки HBsAg, а інших маркерів, звичайних для типового HBV, не було виявлено [82]. Знайдені при цьому вірусні частинки були більшими, ніж класичний (дикий) HBV. Цей вірус називали вірусом гепатиту В 2-го типу. Установлено також, що мутація в Pre-C-зоні HB-вірусу може призводити до тяжкого перебігу HBV-інфекції з високим рівнем рецидивів після терапії реафероном, до розвитку фульмінантного гепатиту В; при цьому HBeAg не виявляється. Стандартна вакцина проти вірусу гепатиту, виготовлена з дикого штаму вірусу, не захищає від інфікування HBV з мутацією в S-зоні [83]. Це необхідно враховувати при конструюванні вакцин проти HBV-інфекції. Важливо відзначити, що в людини, зараженої спочатку класичним диким штамом HBV, можуть з'явитися мутантні штами, це впливає на клінічний перебіг хвороби і на серологічний профіль HBV-інфекції.

Naumann H. et al. [84] вперше описали новий, 6-й вид генотипу, повний геном якого був виділений, клонований, упорядкований і позначений як w4B. Було виявлено загальне генетичне формування типових гепаднавірусів з чотирма «рамками зчитування», що містять рс-регіон. При порівнянні w4B з 19 повними геномами HBV була відзначена розбіжність між ними на 15 %, тимчасом як раніше повідомлялося про розбіжність у 11 %. На відміну від 5 раніше відомих генотипів HBV від А до Е, w4B ще й мав зв'язаний характер мутації, поза «вікном зчитування».

R. I. Sastrosoewignjo et al. [85] вивчили молекулярну епідеміологію вірусу гепатиту В серед жителів Індонезії. Зразки сироватки крові 20 пацієнтів Індонезії порівняли зі зразками з інших країн, включаючи Китай, Францію, Англію, Японію, США, СРСР, Кенію, Папуа-Нову Гвінею і Філіппіни. Автори виділили 5 генотипів і стосовних до них субтипів: 12 субтипів належали генотипові В (adw і 7 ауw 5), 13 — генотипові С (adw 1, adr 10, ayr і 1 ar 1), 2 — до генотипу D (ауw); і жодного не належало генотипам А і Е.

Трохи пізніше М. Т. Moraes et al. [86] вивчили послідовність нуклеотидів pre S/S гена вірусу гепатиту В — видів генотипів і субтипів, виділених у жителів Ріо-де-Жанейро, Бразилія. У результаті проведених досліджень були виділені 3 генотипи (А, D, F) і 9 генотипів (3 — adw 2, 3 — ауw 2 і 3 — ауw 3). Викликав інтерес той факт, що присутність амінокислотної мутації в pre-S регіоні, характерна для Ріо-де-Жанейро, не реєструвалася в інших регіонах світу.

Розходження генотипів HBV і наявність мутацій пресоре регіону були досліджені в 333 зразках крові від носіїв HbsAg і хворих на гострий гепатит В із 5 країн Центральної Америки (Коста-Ріка, Нікарагуа, Гондурас, Сальвадор і Гватемала) методом ПЛР [87]. Генотипуванням обмеженої послідовності в межах S-гена було виділено 90 видів, 66 з яких мали високий рівень ДНК HBV, 24 — низький; 23 зразки мали Hbe-позитивні антитіла. У результаті дослідження було з'ясовано, що генотип F був виявлений у 71 (79 %) зразку сироватки крові, А — у 13 (14 %), D — у 5 (6 %) і С — в одного донора із 90 зразків сироваток; 18 хворих з генотипом F мали антитіла до Hbe і ДНК HBV. Раніше були опубліковані 3 послідовності пресоре генотипу F з мутаціями в різних ділянках. Переважання генотипу F серед населення Центральної Америки виявилось несподіваним і було розцінене як характерне для американських індіанців Нового Світу.

Тією ж групою авторів, але в іншому дослідженні [88], вивчена молекулярна епідеміологія вірусу гепатиту В серед жителів Центральної Америки на прикладі генетич-

них розходжень малого S-гена. Було виділено 31 вид S-гена, що належать генотипам А, С, D і F (4, 1, 4 і 22 види відповідно) і порівняно з раніше опублікованими 104 видами генів; 21 вид генотипу F був закодований як adw 4 і 1 — як ауw 4. У межах генотипу F простежувалися 3 групи, розходження між якими полягало в змінах у 45-му амінокислотному залишку. Перша група включила 18 видів генотипу F з Центральної Америки і 1 вид з Аляски, що об'єдналися за амінокислотою Thr у 45-й позиції. До другої групи увійшли 2 види з Центральної Америки, 6 — з Південної Америки і Європи, які мали загальний Leu 45. Два види з Нікарагуа відрізнялися наявністю Pro 45 у п'ятому заміщенні ланцюжка S-гена. Автори наголошують, що переважання генотипу F могло б стати причиною низького поширення HBV у регіоні, незважаючи на високу частоту гепатиту А.

Подібні результати були отримані L. Blitz, F. H. Pujol [89] при вивченні антигенної розмаїтості генотипу F HBV серед американських індіанців і інших популяцій Венесуели. Adw 4 підтип HBV належить до унікальної групи генотипу F, що є лише у жителів Нового Світу. У дослідженні порівнювалися зразки крові 141 носія HbsAg. Підтип adw 4 виявився вельми розповсюдженим (75 % обстежених). Серед американських індіанців зустрічальність adw 4 сягала 97 %. Ще у 10 % випадків траплявся підтип adw 2, тим же часом інші підтипи (adw 3 і adw 4) виявлялися лише випадково. Таким чином, генотип F був досить розповсюдженим (80 %), особливість його для даного регіону полягала в асоціації з субтипами adw 2 і adw 4.

A. Quintero et al. [90] вивчили циркуляцію генотипів I і III вірусу гепатиту HDV, асоційованих з генотипом F HBV у Венесуелі. Згідно з результатами проведеного дослідження, тільки в одному випадку HDV-генотип I був асоційований з HBV-генотипом D, у 4 випадках HDV-генотип I і 2 — HDV-генотип III були асоційовані з генотипом F. З'ясувалося, що HDV-генотип I, що циркулює серед американських індіанців, можливо, завезений європейсь-

кими емігрантами і здатний до реплікації при асоціації з генотипом F HBV.

Китайські вчені (Z. Wang та ін.) дослідили генетичну різноманітність вірусу гепатиту В [91]. За їхніми даними, у Китаї переважає генотип С цього вірусу, причому варіант HBV-C1/Cs був виділений у 21 % обстежених, а HBV-C2/Ce — у 74 %. Крім того, автори виділили ще два типи вірусу, які були поширені лише в одній провінції країни, — HBV-CD1 і HBV-CD2.

J. M. Sanchez-Tapias et al. [92] вивчили різні варіанти генотипів і S-гена у 15 мексиканців з HBV-інфекцією. Домінуючими видами генотип/субтип були F/adw 4 (66,6 %), рідше траплялися A/adw 2 (20,0 %), D/ayw 3 (6,7 %) і G/adw 2 (6,7 %). Мексиканські види в межах генотипів А — D вказують високу гомологічність з типами з Європи і Сполучених Штатів, що свідчить про спільність епідеміологічного процесу.

Інша група авторів, але також під керівництвом J. M. Sanchez-Tapias et al. [93], вивчила вплив генотипу вірусу на клінічний перебіг хронічного вірусного гепатиту В. Серед хворих переважали генотипи А (52 %), D (35 %) і F (7 %). Стійка біохімічна ремісія частіше спостерігалася при генотипі А. Сероконверсія HbeAg у анти-Hbe не корелювала з видом генотипу, проте була більш стійкою при генотипі А порівняно з наявністю генотипів D або F. Водночас смерть від печінкової недостатності частіше асоціювалася з генотипом F.

З цими даними корелювали результати досліджень спектра генотипів у крові хворих на HBV-інфекцію, що знаходилися на гемодіалізі у кількох діалітичних центрах Бразилії. S. A. Teles et al. [94] аналізували ізоляти 282 пацієнтів з Гуани (Центральної Бразилії). Були виділені генотипи А (50 %) і D (46,2 %), тимчасом як генотип F траплявся відносно рідко (3,8 %). Домінували серологічні субтипи adw 2 (44,1 %) і ayw 3 (41,2 %).

Вивчення ізолятів, отриманих у різних регіонах світу, свідчить про наявність мінімум семи основних генетичних варіантів вірусу гепатиту С [95]. Визначення і вивчення генотипу вірусу гепатиту С у хворого має практичне і прогностичне значен-

ня, тому що встановлено, що особи, інфіковані окремими генотипами HС, зокрема 3-м і 4-м, погано піддаються лікуванню рефероном.

З часом можливі зміни географічного поширення того чи іншого типу вірусу. Так, у дослідженні венесуельських вчених F. H. Pujol і C. L. Loureiro [96] показано, що у країнах Латинської Америки відбувається поступове заміщення генотипу вірусу гепатиту С 1b генотипом 2, при цьому поширення генотипу С було мінімальним у Венесуелі, що пов'язано з малою кількістю ін'єкційних наркоманів у цій країні, серед яких генотип 3 є найбільш поширеним.

Дещо іншим є розподіл різних генетичних варіантів збудника вірусного гепатиту С в європейських країнах. Так, в Естонії найчастіше трапляється генотип 1b (71 %), рідше — інші генотипи [97]: 3a (24 %), 2c (2 %), 1a (1 %) і 2a (1 %). Автори відзначають, що частота виявлення генотипу 3a в останні роки зросла. Також описано один випадок 2k/1b у хворого, який народився у Санкт-Петербурзі. Цей генотип раніше не виявлявся в Естонії.

7.4. Молекулярна епідеміологія інших інфекційних захворювань

Останнім часом суттєвих успіхів досягнуто у вивченні молекулярної епідеміології малярії [98]. При вивченні особливостей генетичної різноманітності ядерного та мітохондріального генетичного матеріалу сучасних штамів *P. falciparum* встановлено, що всі вони походять від одного штаму, який існував у Африці і набув поширення приблизно 10 000–100 000 років тому. *P. vivax* поширився в людській популяції дещо раніше з Південно-Східної Азії.

Найбільш дослідженим слід вважати збудника тропічної малярії *P. falciparum*. Проведений аналіз 12 мікросателітних локусів показав наявність сильної негативної кореляції між співвідношенням інфекцій зі змішаним генотипом і незбалансованістю мультилокусних зв'язків. При цьому найвища частота тропічної малярії зі змішаним генотипом збудника спостерігалася серед

африканського населення, а найменша — серед мешканців Латинської Америки.

Найбільше практичне значення мають алелі генів, які є відповідальними за підвищену резистентність до протималарійних ліків.

Становлять також інтерес дослідження у галузі молекулярної епідеміології госпітальних штамів збудників нозокоміальної інфекції [99]. Метицилінорезистентні штами *Staphylococcus aureus* (MRSA) в останні роки набули широкого розповсюдження як збудники інфекцій у багатьох країнах світу. Метою трирічного ретроспективного когортного дослідження, проведеного Т. Е. Zaoutis et al. (США), було порівняння клінічної та молекулярної епідеміології позалікарняних штамів MRSA у дітей, що мали різні фактори ризику розвитку інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги.

У дослідження було включено відомості про дітей з інфекціями, викликаними позалікарняними штамми MRSA. Виявлення факторів ризику розвитку інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги (госпіталізація протягом попереднього року, встановлення постійних катетерів, хронічна супровідна патологія тощо), здійснювалося в процесі вивчення медичної документації. Генетичне споріднення виділених штамів MRSA оцінювалося методом гел'електрофорезу у пульсуючому гелі. Полімеразна ланцюгова реакція використовувалася для виявлення продукції штамми лейкоцидину Пантон-Валентина і детермінанти метицилінорезистентності — стафілококової хромосомної касети, що несе *mecA*-ген (SCCmec).

Позалікарняні штами MRSA, виділені у дітей з факторами ризику, значущо не відрізнялися порівняно з іншими дітьми. У всіх ізолятах MRSA була виявлена касета SCCmec IV типу і практично усі виділені штами були чутливі до триметоприму/сульфаметоксазолу і кліндаміцину. Однак дослідження ізолятів методом електрофорезу в пульсуючому гелі дозволило виявити значущі розходження на молекулярному рівні серед позалікарняних штамів MRSA, виділених у дітей з факторами ри-

зику розвитку інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, порівняно зі штамми, виділеними у практично здорових дітей ($P=0,001$). Крім того, у позалікарняних штаммах MRSA, виділених у дітей з факторами ризику, з меншою частотою виявлялися генетичні послідовності, що кодують продукцію лейкоцидину Пантон-Валентина ($P<0,001$), також відзначалася більш висока частота резистентності до трьох і більш класів антибактеріальних препаратів ($P=0,033$). На думку авторів, відсутність детермінанти метицилінорезистентності SCCmec II або III типу у штамів MRSA, виділених у дітей з факторами ризику, дозволяє припустити, що позалікарняні штами MRSA є ендемічними для лікувально-профілактичних закладів [100].

Таким чином, незалежно від природи збудника, особливостей його взаємодії з організмом хазяїна, застосування молекулярно-епідеміологічного підходу дає змогу не лише оцінити ймовірні джерела і шляхи поширення різних клінічних варіантів інфекції, але й визначити перспективні напрямки у прогнозуванні, профілактиці та лікуванні відповідних захворювань. Наявність регіональних й етнічних особливостей поширення тих чи інших генетичних варіантів інфектагента дозволяє визначати цільові групи, диференційовано застосовувати наявні матеріальні та кадрові ресурси системи охорони здоров'я.

Список літератури

1. Palomino J. C. Tuberculosis. From basic science to patient care [Електронний ресурс] / J. C. Palomino, S. C. Leao, V. Ritacco. — 2007. — 675 p. — Режим доступу : <http://www.TuberculosisTextbook.com>
2. Майорова А. А. Микобактерии — общая характеристика и таксономия / А. А. Майорова, В. Н. Степаншина, И. Г. Шемякин // Проблемы туберкулеза и болезней легких. — 2008. — № 11. — С. 3-6.
3. Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights / B. Mathema, N. Kurepina, P. Bifani [et al.] // Clinical microbiology

reviews. — 2006. — Vol. 19, N 4. — P. 658-685.

4. Nicol M. P. The clinical consequences of strain diversity in *Mycobacterium tuberculosis* / M. P. Nicol, R. J. Wilkinson // Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. — 2008. — Vol. 102, N 10. — P. 955-965.

5. Characterization of a *Mycobacterium tuberculosis* insertion sequence, IS6110, and its application in diagnosis / D. Thierry, A. Brisson-Nojil, V. Vincent-Levy-Frèbault [et al.] // J. Clinical microbiology. — 1990. — Vol. 28, N 12. — P. 2668-2673.

6. McHugh T. Nonrandom Association of IS6110 and *Mycobacterium tuberculosis*: Implications for Molecular Epidemiological Studies / T. McHugh, S. Gillespie // Journal of Clinical Microbiology. — 1998. — Vol. 36, N 5. — P. 1410-1413.

7. The role of IS6110 in the evolution of *Mycobacterium tuberculosis* / C. McEvoy, A. Falmer, N. van Pittius [et al.] // Tuberculosis. — 2007. — Vol. 87. — P. 393-404.

8. Coros A. IS6110, a *Mycobacterium tuberculosis* complex-specific insertion sequence, is also present in the genome of *Mycobacterium smegmatis*, suggestive of lateral gene transfer among mycobacterial species / A. Coros, E. DeConno, K. Derbyshire // Journal of bacteriology. — 2008. — Vol. 190, N 9. — P. 3408-3410.

9. Stability of DNA fingerprint pattern produced with IS6110 in strains of *Mycobacterium tuberculosis* / M. Cave, K. Eisenach, G. Templeton [et al.] // Clinical microbiology. — 1994. — Vol. 32, N 1. — P. 262-266.

10. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology / J. D. van Embden, M. D. Cave, J. T. Crawford [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 1993. — Vol. 31, N 2. — P. 406-409.

11. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility

/ K. Kremer, D. van Soolingen, R. Frothingham [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 1999. — Vol. 37, N 8. — P. 2607-2618.

12. *Mycobacterium tuberculosis* transmission between cluster members with similar fingerprint patterns / Kashef Ijaz, Zhenhua Yang, H. Stewart Matthews [et al.] // J. of Infectious Diseases. — 2002. — Vol. 8. — P. 670-678.

13. Gillespie S. False molecular clusters due to nonrandom association of IS6110 with *Mycobacterium tuberculosis* / S. Gillespie, A. Dickens, T. McHugh // J. of clinical microbiology. — 2000. — Vol. 38, N 6. — P. 2081-2086.

14. The IS6110 repetitive DNA element of *Mycobacterium tuberculosis* is not detected in exhaled breath condensate of patients with active pulmonary tuberculosis / J. Rupali, C. A. Schriever, L. Danziger [et al.] // Respiration. — 2007. — Vol. 74. — P. 329-333.

15. Murray M. Molecular epidemiology of tuberculosis: achievements and challenges to current knowledge / M. Murray, E. Nardell // Bulletin of the World Health Organization. — 2002. — Vol. 80. — P. 477-482.

16. Restricted structural gene polymorphism in the *Mycobacterium tuberculosis* complex indicates evolutionarily recent global transmission / S. Sreevatsan, X. Pan, K. Stockbauer [et al.] // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1997. — Vol. 94. — P. 9869-9874.

17. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology / J. Kamerbeek, L. Schouls, A. Kolk [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 1997. — Vol. 35. — P. 907-914.

18. Global distribution of *Mycobacterium tuberculosis* spoligotypes / I. Filliol, J. R. Driscoll, D. van Soolingen [et al.] // Emerg. Inf. Dis. — 2002. — Vol. 8. — P. 1347-1349.

19. Brudey K. *Mycobacterium tuberculosis* complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology [Електронний ресурс] / K. Brudey, J. R. Driscoll, L. Rigouts

// BMC Microbiology. — 2006. — Vol. 6. — Режим доступу : <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/6/23>

20. *Van Sooligen D.* Molecular epidemiology of tuberculosis and other mycobacterial infections: main methodologies and achievements / D. van Sooligen // J. Int. Med. — 2001. — Vol. 249. — P. 1-26.

21. *Frothingham R.* Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem repeats / R. Frothingham, W. A. Meeker-O'Connell // Microbiology. — 1998. — Vol. 144. — P. 1189-1196.

22. *Automated* high-throughput genotyping for study of global epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* based on mycobacterial interspersed repetitive units / P. Supply, S. Lesjean, E. Savine [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2001. — Vol. 39. — P. 3563-3571.

23. *Genomic* deletions classify the Beijing / W strains as a distinct genetic lineage of *Mycobacterium tuberculosis* / A. Tsolaki, S. Gagneux, A. Pym [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2005. — Vol. 43. — P. 3185-3191.

24. *Contribution* of horizontally acquired genomic islands to the evolution of the tubercle bacilli / J. Becq, M. C. Gutierrez, V. Rosas-Magallanes [et al.] // Mol. biol. evol. — 2007. — Vol. 24. — P. 1861-1871.

25. *Evidence* for recombination in *Mycobacterium tuberculosis* / X. Liu, M. M. Gutacker, J. M. Musser [et al.] // J. Bacteriol. — 2006. — Vol. 188. — P. 8169-8177.

26. *Modeling* bacterial evolution with comparative-genome-based marker systems: application to *Mycobacterium tuberculosis* evolution and pathogenesis / D. Alland, T. S. Whittam, V. B. Murray [et al.] // J. Bacteriol. — 2003. — Vol. 185. — P. 3392-3399.

27. *Functional* and evolutionary genomics of *Mycobacterium tuberculosis*: insights from genomic deletions in 100 strains / G. Tsolaki, A. Hirsh, K. DeRiemer [et al.] // PNAS. — 2004. — Vol. 101, N 14. — P. 4865-4870.

28. *Global* phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* based on single nucleotide poly-

morphism (SNP) analysis: insights into tuberculosis evolution, phylogenetic accuracy of other DNA fingerprinting systems and recommendations for a minimal standard SNP set / I. Filliol, A. Motiwala, M. Cavatore [et al.] // J. Bacteriol. — 2006. — Vol. 188. — P. 759-772.

29. *Ernst J.* Genomics and the evolution, pathogenesis, and diagnosis of tuberculosis / J. Ernst, G. Trevejo-Nunez, N. Banaiee // J. Clin. Invest. — 2007. — Vol. 117, N 7. — P. 1738-1745.

30. *Molecular* analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis* / G. Mahairas, P. Sabo, M. Hickey [et al.] // J. Bacteriol. — 1996. — Vol. 178. — P. 1274-1282.

31. *Identification* of variable regions in the genomes of tubercle bacilli using bacterial artificial chromosome arrays / S. Gordon, R. Brosch, A. Billault [et al.] // Mol. Microbiol. — 1999. — Vol. 32. — P. 643-655.

32. *A new* evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex / R. Brosch, S. Gordon, M. Marmiesse [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2002. — Vol. 99. — P. 3684-3689.

33. *Variable* host-pathogen compatibility in *Mycobacterium tuberculosis* / S. Gagneux, K. DeRiemer, T. Van [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2006. — Vol. 103. — P. 2869-2873.

34. *Genotyping* of the *Mycobacterium tuberculosis* complex using MIRUs: association with VNTR and spoligotyping for molecular epidemiology and evolutionary genetics / C. Sola, I. Filliol, E. Legrand [et al.] // Infect. Genet. Evol. — 2003. — Vol. 3. — P. 125-133.

35. *Молекулярное* типирование штаммов микобактерий туберкулеза в Иркутской области (Восточная Сибирь) в 2000–2005 гг. / О. Б. Огарков, Т. В. Медведева, Т. Zozio [и др.] // Молекулярная медицина. — 2007. — № 2. — С. 33-34.

36. *Медикаментозна* резистентність мікобактерій туберкульозу в Одеській області та фактори розповсюдження резистентного туберкульозу: дані проспектив-

ного дворічного дослідження / О. К. Асмолов, В. В. Ніколаєвський, В. Й. Кресюн [та ін.] // Український пульмонологічний журнал. — 2005. — № 2. — С. 9-15.

37. Бажора Ю. И. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных в Южном регионе Украины / Ю. И. Бажора, В. В. Николаевский, Ф. Дробневский // Цитология и генетика. — 2004. — № 4. — С. 23-28.

38. Львова Л. В. Харьковская школа фтизиатрии: штрихи к портрету / Л. В. Львова, П. И. Потейко // Провизор. — 2004. — № 22. — С. 6-10.

39. Mailik A. N. Effects of genetic variability of *Mycobacterium tuberculosis* strains on the presentation of disease / A. N. Mailik, P. Godfrey-Faussett // Lancet Infect. Dis. — 2005. — Vol. 5, N 3. — P. 174-183.

40. A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different *Mycobacterium tuberculosis* genotypes / B. López, D. Aguilar, H. Orozco [et al.] // Clin. Exp. Immunol. — 2003. — Vol. 133, N 1. — P. 30-37.

41. Gene expression diversity among *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates / Q. Gao, K. Kripke, A. Saldanha [et al.] // Microbiology. — 2005. — Vol. 151, pt 1. — P. 5-14.

42. Abebe F. The emergence of Beijing family genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* and low-level protection by bacilli Calmette-Guerin (RCG) vaccines: is there a link? / F. Abebe, G. Bjune // Clin. exp. immunol. — 2006. — Vol. 145, N 3. — P. 389-397.

43. Virulence of selected *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates in the rabbit model of meningitis is dependent on phenolic glycolipid produced by the bacilli / L. Tsenova, E. Ellison, R. Harbacheusky [et al.] // J. Infect. Dis. — 2005. — Vol. 192. — P. 98-106.

44. Rindi L. Variation of the gene expression of *Mycobacterium tuberculosis* ppe44 gene among clinical isolates / L. Rindi, I. Peroni, N. Lari [et al.] // FEMS Immunol.

Med. Microbiol. — 2007. — Vol. 51, N 2. — P. 381-387.

45. Пальцев М. А. Значение биомедицинских фундаментальных исследований для фтизиатрии / М. А. Пальцев // Проблемы туберкулеза и болезней легких. — 2004. — № 4. — С. 3-7.

46. Boshoff H. I. Tuberculosis-metabolism and respiration in the absence of growth / H. I. Boshoff, C. E. Barry // Nat. Rev. Microbiol. — 2005. — N 3. — P. 70-80.

47. The W-Beijing lineage of *Mycobacterium tuberculosis* overproduces triglycerids and has the DosR dormancy regulon constitutively upregulated / M. B. Reed, S. Gagneux, K. Deriemer [et al.] // J. Bacteriol. — 2007. — Vol. 189, N 7. — P. 2583-2589.

48. A novel lipase belonging to the hormone-sensitive lipase family induced under starvation to utilize stored triacylglycerol in *Mycobacterium tuberculosis* / J. Daniel, C. Deb, V. S. Dubey [et al.] // J. Biol. Chem. — 2006. — Vol. 281. — P. 3866-3875.

49. Association of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype with tuberculosis relapse in Singapore / Yj Sun, A. S. Lee, S. Y. Wong [et al.] // Epidemiol. Infect. — 2006. — Vol. 134, N 2. — P. 329-332.

50. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and risk for treatment failure and relapse, Vietnam / N. T. Lan, H. T. Lien, Ie. B. Tung [et al.] // Emerg. Infect. Dis. — 2003. — Vol. 9, N 12. — P. 1633-1635.

51. Association between *Mycobacterium tuberculosis* Beijing/W Lineage Strain Infection and Extrathoracic Tuberculosis: Insights from Epidemiologic and Clinical Characterization of the Three Principal Genetic Groups of *M. tuberculosis* Clinical Isolates / Y. Kong, M. D. Cave, L. Zhang [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2007. — Vol. 45, N 2. — P. 409-414.

52. Чеснокова М. М. Особливості перебігу туберкульозу при інфікуванні штамми *M. tuberculosis* родини Beijing / М. М. Чеснокова, Ю. І. Бажора, Н. А. Левицька // Одеський медичний журнал. — 2009. — Т. 111, № 1. — С. 33-36.

53. *The epidemiology of tuberculosis in San Francisco. A population-based study using conventional and molecular methods* / P. M. Small, P. C. Hopewell, S. P. Singh [et al.] // *N. Engl. J. Med.* — 1994. — Vol. 330. — P. 1703-1709.
54. *Карачунский М. А. Молекулярная эпидемиология туберкулеза* / М. А. Карачунский, Л. Н. Черноусова // *Проблемы туберкулеза и болезней легких.* — 2007. — № 4. — С. 3-7.
55. *Tuberculosis contact investigation and DNA fingerprint surveillance in the Netherlands: 6 years' experience with nation-wide cluster feedback and cluster monitoring* / C. Lambregts-van-Weezenbeek, M. Sebek, P. van Gerven [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* — 2003. — Vol. 7. — P. 463-470.
56. *Proportion of tuberculosis transmission that takes place in households in a high-incidence area* / S. Verver, R. M. Warren, Z. Munch [et al.] // *Lancet.* — 2004. — Vol. 363. — P. 212-214.
57. *Comas I. The past and future of tuberculosis research* [Електронний ресурс] / I. Comas, S. Gagneux // *PLoS Pathog.* — 2009. — Vol. 5, N 10. — Режим доступу : <http://www.plospathogens.org/article/>
58. *Wang Z. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics* / Z. Wang, M. Gerstein, M. Snyder // *Nat. Rev. Genet.* — 2009. — Vol. 10. — P. 57-67.
59. *Arnvig K. Identification of small RNAs in Mycobacterium tuberculosis* // K. Arnvig, D. Yong // *Mol. Microbiol.* — 2009. — Vol. 73. — P. 397-408.
60. *Беленська Л. М. Удосконалення організації медичної допомоги ВІЛ-інфікованим і хворим на СНІД та обґрунтування профілактичних заходів* : дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.02.03 / Л. М. Беленська ; Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика. — К., 2006. — 322 с.
61. *Гранитов В. М. ВИЧ-инфекция/СПИД, СПИД-ассоциированные инфекции и инвазии* / В. М. Гранитов. — М. : Медицинская книга, 2003. — 124 с.
62. *Герасименко Т. В. Особливості епідемічного процесу ВІЛ-інфекції у Північно-Західному Причорномор'ї* : автореф. дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.02.02 / Т. В. Герасименко ; АМН України ; Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського. — К., 2004. — 21 с.
63. *Monitoring the 2001 Declaration of Commitment on HIV/AIDS* / M. Warner-Smith, D. Rugg, L. Frescura [et al.] // *Acquir. Immune. Defic. Syndr.* — 2009, Dec. — Vol. 52, Suppl. 2. — P. 77-78.
64. *Smit E. J. HIV / E. J. Smit* // *Sex Transm. Infect.* — 2006. — Vol. 82, Suppl. 4. — P. 42-45.
65. *Pandrea I. AIDS in african nonhuman primate hosts of SIVs: a new paradigm of SIV infection* / I. Pandrea, G. Silvestri, C. Apetrei // *Curr. HIV Res.* — 2009. — Vol. 7, N 1. — P. 57-72.
66. *Noninfectious entry of HIV-1 into peripheral and brain macrophages mediated by the mannose receptor* / J. R. Trujillo, R. Rogers, R. M. Molina [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2007. — Vol. 104, N 12. — P. 5097-5102.
67. *Kuiken C. HIV sequence databases* / C. Kuiken, B. Korber, R. W. Shafer // *AIDS Rev.* — 2003, Jan.-Mar. — Vol. 5, N 1. — P. 52-61.
68. *Worldwide distribution of HIV type 1 epitopes recognized by human anti-V3 monoclonal antibodies* / T. Cardozo, J. Swetnam, A. Pinter [et al.] // *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* — 2009, Apr. — Vol. 25, N 4. — P. 441-450.
69. *Jablonowski H. Weltweite HIV-situation* / H. Jablonowski, B. Jablonowski // *MMW Fortschr. Med.* — 2009, Apr 30. — Bd. 151, N 18. — P. 32-33.
70. *Methods for viral RNA isolation and PCR amplification for sequencing of near full-length HIV-1 genomes* / K. S. Kemal, M. Reinis, B. Weiser, H. Burger // *Methods. Mol. Biol.* — 2009. — Vol. 485. — P. 3-14.
71. *Prevention of mother-to-child transmission of HIV infection: Ukraine experience to date* / R. Malyuta, M. Newell, M. Ostergren [et al.] // *Eur. J. Public. Health.* — 2006, Apr. — Vol. 16, N 2. — P. 123-127.

72. *Rates of HIV-1 transmission per coital act, by stage of HIV-1 infection* / M. J. Wawer, R. H. Gray, N. K. Sewankambo [et al.] // *J. Infect. Dis.* — 2005, May 1. — Vol. 191, N 9. — P. 1403-1409.
73. *Key reports from the XV International HIV Drug Resistance Workshop 2006* / M. Mascolini, C. Boucher, B. Larder [et al.] // *Antivir. Ther.* — 2007. — Vol. 12, N 1. — P. 131-145.
74. *The rate of epidemiological and virological changes during the transition from nascent to concentrated HIV epidemic stage in the former Soviet Union countries* / A. A. Nabatov, A. E. Masharsky, S. V. Verevchkin [et al.] // *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* — 2007, Feb. — Vol. 23, N 2. — P. 183-192.
75. *Epidemiology of HIV infection in St. Petersburg, Russia* / A. P. Kozlov, G. V. Volkova, A. G. Malykh [et al.] // *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* — 1993, Feb. — Vol. 6, N 2. — P. 208-212.
76. *Molecular epidemiology of hepatitis A virus in a group of Portuguese citizens living in Lisbon area* / L. Rodrigues, A. Pista, A. Oliveira [et al.] // *J. Med. Virol.* — 2007, May. — Vol. 79, N 5. — P. 483-487.
77. *Molecular epidemiological studies show that hepatitis A virus is endemic among active homosexual men in Europe* / K. Stene-Johansen, G. Tjon, E. Schreier [et al.] // *J. Med. Virol.* — 2007, Apr. — Vol. 79, N 4. — P. 356-365.
78. *Wasley A. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for acute viral hepatitis, United States, 2005* / A. Wasley, J. T. Miller, L. Finelli // *MMWR Surveill Summ.* — 2007, Mar 16. — Vol. 56, N 3. — P. 1-24.
79. *Tong S. Impact of viral genotypes and naturally occurring mutations on biological properties of hepatitis B virus* / S. Tong // *Hepatol. Res.* — 2007. — Vol. 37 (s1). — P. 3-8.
80. *Kao J. H. Appropriate use of interferon for treatment of chronic hepatitis B* / J. H. Kao // *Hepatol. Res.* — 2007. — Vol. 37 (s1). — P. 47-54.
81. *Genetic characteristics of hepatitis B virus genotypes as a factor for interferon-induced HBeAg clearance* / J. Hou, R. Schilliy, H. L. Janssen [et al.] // *J. Med. Virol.* — 2007, Aug. — Vol. 79, N 8. — P. 1055-1063.
82. *Acceleration to death from liver cancer in people with hepatitis B virus mutations detected in plasma by mass spectrometry* / J. G. Chen, S. Y. Kuang, P. A. Egner [et al.] // *Cancer. Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2007. — Vol. 16, N 6. — P. 1213-1238.
83. *Valsamakis A. Molecular testing in the diagnosis and management of chronic hepatitis B* / A. Valsamakis // *Clin. Microbiol. Rev.* — 2007. — Vol. 20, N 3. — P. 426-439.
84. *Identification of a new hepatitis B virus (HBV) genotype from Brazil that expresses HBV surface antigen subtype adw4* / H. Naumann, S. Schaefer, C. F. Yoshida [et al.] // *J. Gen. Virol.* — 1993. — Vol. 74, Pt. 8. — P. 1627-1632.
85. *Sastrosoewignjo R. I. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Indonesia* / R. I. Sastrosoewignjo, B. Sandjaja, H. Okamoto // *J. Gastroenterol. Hepatol.* — 1991. — Vol. 6, N 5. — P. 491-498.
86. *Moraes M. T. A polymerase chain reaction-based assay to identify genotype F of hepatitis B virus* / M. T. Moraes, C. Niel, S. A. Gomes // *Braz. J. Med. Biol. Res.* — 1999. — Vol. 32, N 1. — P. 45-49.
87. *Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America* / P. Arauz-Ruiz, H. Norder, B. H. Robertson, L. O. Magnius // *J. Gen. Virol.* — 2002. — Vol. 83, Pt. 8. — P. 2059-2073.
88. *Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Central America reflected in the genetic variability of the small S gene* / P. Arauz-Ruiz, H. Norder, K. A. Visona, L. O. Magnius // *J. Infect. Dis.* — 1997. — Vol. 176, N 4. — P. 851-858.
89. *Antigenic diversity of hepatitis B virus strains of genotype F in Amerindians and other population groups from Venezuela* / L. Blitz, F. Pujol, P. Swenson [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 1998, Mar. — Vol. 36, N 3. — P. 648-651.

90. *Molecular* epidemiology of hepatitis B virus in Afro-Venezuelan populations / A. Quintero, D. Martinez, B. Alarcon De Noys [et al.] // Arch. Virol. — 2002. — Vol. 147, N 9. — P. 1829-1836.
91. *Hepatitis* B virus genotypes and sub-genotypes in China / Z. Wang, Y. Huang, S. Wen [et al.] // Hepatol. Res. — 2007. — Vol. 37 (s1). — P. 36-41.
92. *Influence* of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients / J. M. Sanchez-Tapias, J. Costa, A. Mas [et al.] // Gastroenterology. — 2002. — Vol. 123, N 6. — P. 1848-1856.
93. *Delayed* clearance of serum HBsAg in compensated cirrhosis B: relation to interferon alpha therapy and disease prognosis. European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP) / G. Fattovich, G. Giustina, J. Sanchez-Tapias [et al.] // Am. J. Gastroenterol. — 1998. — Vol. 93, N 6. — P. 896-900.
94. *Hepatitis* B virus transmission in Brazilian hemodialysis units: serological and molecular follow-up / S. A. Teles, R. M. Martins, S. A. Gomes [et al.] // J. Med. Virol. — 2002. — Vol. 68, N 1. — P. 41-49.
95. *Bowden* D. S. Chronic hepatitis C virus infection: genotyping and its clinical role / D. S. Bowden, M. D. Berzsényi // Future Microbiol. — 2006. — Vol. 1. — P. 103-112.
96. *Pujol* F. H. Replacement of hepatitis C virus genotype 1b by genotype 2 over a 10-year period in Venezuela / F. H. Pujol, C. L. Loureiro // J. Clin. Gastroenterol. — 2007. — Vol. 41, N 5. — P. 518-520.
97. *Genetic* characterization of hepatitis C virus strains in Estonia: fluctuations in the predominating subtype with time // J. Med. Virol. — 2007. — Vol. 79, N 4. — P. 374-382.
98. *Conway* D. J. Molecular epidemiology of malaria / D. J. Conway // Clin. Microbiol. Rev. — 2007. — Vol. 20, N 1. — P. 188-204.
99. *Molecular* epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from clinical specimens of patients with nosocomial infection: are there unnoticed silent outbreaks? / M. S. Tekerekoglu, S. Ay, B. Otlul [et al.] // New Microbiol. — 2007. — Vol. 30, N 2. — P. 131-137.
100. *Молекулярное* генотипирование метициллин-резистентных штаммов *Staphylococcus aureus*, изолированных в больницах различных регионов России и Белоруссии / О. А. Дмитренко, И. А. Шагинян, В. Я. Прохоров [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 2005. — № 4. — С. 46-52.

Розділ 8. Молекулярна епідеміологія онкологічних захворювань

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF ONCOLOGIC DISEASES

The results of molecular-genetic investigation of cancers are discussed in this chapter. The main attention is paid to the biological markers of oncologic pathology because the determination of exposure markers, biological effect and dose markers, susceptibility markers, changed structures and functions and others are important for molecular epidemiology in this field of health care.

Об'єктом дослідження молекулярної епідеміології раку є пусковий момент формування схильності до його розвитку, що базується на генетичній мінливості [1–3]. Оскільки розвиток раку провокується впливом ззовні, вивчення взаємодії «ген — навколишнє середовище» є основоположним у розумінні канцерогенезу людини. Дослідження у цій галузі починалися з вивчення простих генетичних змін в окремих генах, пов'язаних з відомими метаболічними порушеннями [4]. Цікаво відзначити, що пріоритети усередині цієї категорії переміщалися у міру розвитку діагностичних технологій з онкогенних вірусів у 60-ті роки, потім хімічних канцерогенів у 70-ті, способу життя у 80-ті до моменту молекулярних і геномних досліджень у наш час (табл. 8.1).

Таблиця 8.1

Категорії факторів раку

Генетичний фактор	Чинник довкілля	
	Не діє	Діє
Не діє	Спонтанні	Мікроби (60-ті роки) Хімікати (70-ті роки) Спосіб життя (80-ті роки)
Діє	Спадкові синдроми Слабко пенетрантні випадки	Взаємодія двох причин

Протягом останніх десятиліть досягнутий значний прогрес, проведена величезна кількість досліджень, у результаті яких виконане генотипування SNP-поліморфізму в генах-кандидатах, встановлений функціональний ефект виявлених поліморфних генів. Проведення широкомасштабних досліджень привело до відкриття генів, які раніше не вивчалися у зв'язку з розвитком злоякісних процесів [5–7].

Реалізація і завершення Human Genome Project дозволили отримати нові дані про генетичні зміни, які імовірно підтверджують факт спадкової теорії раку як важливого фактора ризику розвитку більшості злоякісних пухлин. Тимчасом як роль генетичних і епігенетичних факторів у розвитку всіх видів раку досить зрозуміла, роль спадкових генів було важко оцінити. Загроза раку унаслідок високопенетрантних мутацій генів, що асоціюються зі спадковими синдромами, виявилася невеликою. Але зростає очевидність того, що звичайні низькопенетрантні гени можуть мати значний вплив у комбінаціях один з одним і факторами навколишнього середовища (табл. 8.2).

Існує так звана спонтанна категорія пухлин, яка охоплює новоутворення, що виникли при випадкових генетичних мутаціях за відсутності відомих шкідливих факторів середовища. Частка таких випадків скорочуватиметься з поліпшенням розуміння нами причинних механізмів. При цьому визначення ролі канцерогенів або

Таблиця 8.2

Гени-модифікатори чутливості

Функція	Приклади
Поведінка	<i>OPRM1, LEP</i>
Метаболізм	<i>ALDH2, NAT2</i>
Гормони	<i>MTHFR</i>
Фактори росту	<i>COMT, SRD5A2</i>
Клітинний цикл	<i>IGF1, GMCSF</i>
Відновлення ДНК	<i>CHEK2</i>
Апоптоз	<i>XRCC1, XRCC3</i>
Теломераза	<i>FAS, CASP8</i>
Розвиток кровоносних судин	<i>TERT, DKC1, EGF, CD14</i>
Імунорегуляція	<i>CCR5, TNF, IL8</i>

антиканцерогенів передбачає знання субстрату або способу зміни гена.

Молекулярна епідеміологія сприяє пошуку генів, які є відповідальними за незначні індивідуальні зміни, але значущість яких зростає в остаточній оцінці ризику розвитку раку за наявності спадкових змін. Ці гени можуть взаємодіяти з навколишнім середовищем і особливостями способу життя таким чином, що ризик розвитку раку істотно не підвищуватиметься у всіх членів популяції. Наприклад, у тих осіб, які піддаються дії факторів даного зовнішнього середовища, але не мають генетичної схильності, або у носіїв генів, що не піддаються впливу факторів зовнішнього середовища, розвиток раку не обов'язковий [8; 9].

Фахівці молекулярної епідеміології проводять дослідження біологічного обґрунтування асоціації «фактор-результат», використовуючи біологічні дослідження дії, внутрішньої дози, біологічно ефективної дози, раннього біологічного ефекту, зміни структури або функції, прогноз захворювання, інвазивну діагностику раку, метастазів. Таким чином, молекулярна епідеміологія може з'ясувати бракуючі дані взаємодії зовнішніх факторів і виникнення або прогресу злоякісного захворювання. Вплив різних факторів навколишнього середовища детальніше описаний у відповідному розділі.

Оскільки суть молекулярної епідеміології полягає в ролі генетичної мінливості як фактора ризику і прогнозу захворювань, використання біомаркерів в оцінці дії та ефекту є обов'язковим компонентом цієї дисципліни. Дослідження за допомогою таких біомаркерів, як ДНК, протеїнові та гемоглобінові аддукти, що виконані сьогодні, визнані надзвичайно важливими. Зростає інтерес до молекулярних маркерів, зокрема протеомних і метаболомних. Молекулярні маркери можуть допомогти диференціювати пухлини із різними підтипами гістологічної будови, прогнозувати відповідь на лікування, що проводиться, залежно від молекулярного підтипу пухлини або природної зміни метаболізму лікарських препаратів.

Біомаркери, що використовують у дослідженнях молекулярної біології раку, можна розділити на такі класи:

1. Маркери експозиції (наприклад, присутність онкогенного вірусу).
2. Маркери дози (кількість онкогенного вірусу).
3. Маркери внутрішньої дози (ДНК-аддукти — модифікації ДНК внаслідок метилування тощо, які утворюються в результаті метаболічної активації певних онкогенів, наприклад афлатоксину).
4. Маркери біологічно ефективної дози (соматичні мутації білка p53, який може бути як самостійною причиною раку, так і частиною багатокомпонентної моделі канцерогенезу).
5. Маркери зміни структури/функції (хромосомна аберація).
6. Маркери схильності (поліморфізм генів, залучених до метаболізму або детоксикації канцерогенів).
7. Маркери підтипу раку (естрогенові та прогестеронові рецептори раку молочної залози).
8. Маркери прогнозу (поліморфізм генів, що відповідають за метаболізм ліків).

У дослідженнях, що ґрунтуються на аналізі біомаркерів, можлива поява похибки, яка може бути результатом відсутності порівнюваності груп, включених у дослідження, хибного розподілу учасників або

статусу дії. Похибка залежить також від валідності відтворюваності та стабільності маркерів. Причиною варіабельності біомаркерів може виявитися внутрішньоіндивідуальна мінливість. Це стосується маркерів, схильних до добових коливань, таких як, наприклад, рівень гормонів. Варіабельність маркера також може залежати від умов взяття матеріалу і помилок на етапі виконання лабораторних досліджень. Згідно з даними Vineis (1997), біомаркером, який схильний до змін на всіх вказаних етапах (внутрішньоорганізмовий, взяття матеріалу, лабораторний аналіз), є цитологічне дослідження клітин шийки матки. Кількісний аналіз ДНК аддуктів залежить від внутрішньоорганічних змін і лабораторного етапу, так само як і фенотипування метаболічного поліморфізму. Найбільш стабільними вважають такі біомаркери, як генотипування поліморфізму генів, що відповідають за метаболізм і детоксикацію та вміст хлороорганічних сполук.

Розрізняють аналітичну та клінічну валідність біомаркера. Під аналітичною валідністю розуміють точність вимірюваного субстрату. Як і в інших галузях епідеміології, це передбачає оцінку таких характеристик, як чутливість і специфічність. Для постійно вимірюваних маркерів необхідні додаткові дослідження, які дозволяють встановити максимальну цінність прогнозування. Після встановлення аналітичної валідності встановлюють клінічну валідність і специфічність біомаркера для визначення клінічного та доклінічного етапу захворювання. Якщо біомаркер передбачають аналізувати як фактор ризику, його валідність спочатку встановлюють за допомогою стандартних епідеміологічних схем. Для використання як інструменту клінічної діагностики — оцінюють його клінічну цінність, тобто сукупність позитивних і негативних результатів, отриманих при використанні біомаркера. Наприклад, такі маркери, як F5, фактор V Лейдена і F2, протромбін 20210g-a, широко використовуються для виявлення генетичних різновидів факторів згортання крові, проте їх клінічну цінність ще належить встановити.

Враховуючи всі аспекти, що впливають на остаточний результат, дуже важливим у молекулярній епідеміології є етап підготовки дослідження, строге ранжирування груп, валідація біомаркерів, визначення необхідного об'єму матеріалу для взяття, стандартизація зберігання біологічних зразків, методів статистичної оцінки й інтерпретації результатів. При чіткому дотриманні цих умов можливо максимально уникнути похибок у дослідженні. Використання біомаркерів у епідеміологічних дослідженнях порушує цілу низку етичних, законодавчих і соціальних проблем. Schulte (1999), автор терміну «молекулярна епідеміологія», запропонував абревіатуру ELSI (Ethical, Legal and Social Issues), що означає комплекс етичних, законодавчих і соціальних питань, які стосуються генетичної інформації. Використовується ELSI лише в контексті генетичних досліджень і генетичної медицини. Питання ELSI порушувалися у таких галузях, як інформована згода, відбір суб'єктів дослідження, повернення інформації про результати дослідження, можливість для дискримінації або стигматизації окремих індивідуумів і груп. В результаті роботи мультидисциплінарної групи (CDC) Centers for Disease Control and Prevention (Центр контролю і запобігання хворобам) був складений і представлений в Інтернет-мережі зразок форми інформованої згоди, а також додаткова інформація, яка може застосовуватися дослідниками для генетичних епідеміологічних досліджень.

8.1. Маркери експозиції, дози

Вимір зовнішньої дії (факторів навколишнього середовища і способу життя, потенційно пов'язаних з ризиком розвитку раку) може виявитися високоінформативним показником, зокрема, з точки зору значущих дій протягом тривалого часу. Якщо дія вимірюється з помилкою, то статистичне співвідношення закономірності між виникненням раку і дією буде порушене. Оскільки ми, здебільшого, зацікавлені в з'ясуванні спільних, але відносно слабких при-

чин раку (тобто дія може подвоювати або зменшувати ризик раку, як куріння, яке підвищує ризик раку легенів у 20 разів і більше), можливість оцінити вплив точно може полягати в різниці між встановленням причинного зв'язку та структурою дослідження. Так, наприклад, для такого потужного фактора, як куріння, асоціація вважається слабкою, але все-таки встановлюваною, якщо присутня помилкова класифікація дії. Проте взаємозв'язок між захворюванням і слабким фактором ризику може бути настільки незначним, що стає статистично не встановлюваним.

Історія дослідження папіломавірусу людини (HPV) і раку шийки матки може бути прикладом того, як можливості зростаючої точності молекулярних досліджень можуть укріпити взаємозв'язок між дією і захворюванням. У наведеному нижче прикладі релевантні виміри належать до присутності або відсутності причинної інфекції, проте дія могла виникнути у віддаленому або врахованому на час встановлення діагнозу. Другий приклад — афлатоксин і рак печінки — ілюструє використання молекулярних слідів з минулої дії, для того щоб зробити висновок про існування зв'язку.

Більше 100 генотипів HPV було ідентифіковано, проте лише деякі з них мають потенційно онкогенну здатність [10]. Вірус папіломи людини селективно інфікує епітелій шкіри і слизових оболонок. Специфічні типи HPV асоціюються з епітеліальною карциномою, аденокарциномою та дисплазіями шийки матки, пеніса, вагіни і вульви [11]. Використовуючи певні технології, ДНК HPV може бути виявлений в 95–100 % випадків зразків раку шийки матки, і саме тому вважається обов'язковою причиною цервікального раку [12–14]. Спочатку для виявлення HPV у цервікальних зразках використовували неампліфікуючі технології, тобто Саузерн-блотинг (метод ідентифікації специфічних форм ДНК у клітинах: молекули ДНК виділяються з клітин і за участі рестрикуючих ферментів розділяються на невеликі фрагменти, які відокремлюються один від одного, і за допомогою генного зонда проводиться пошук

ідентичних ділянок ДНК), гібридизацію *in situ* (метод заснований на використанні нерадіоактивних зондів, наприклад, біотинільованої ДНК) і дот-блот аналіз (аналіз методом гібридизації макромолекул шляхом дифузії крізь точкові отвори в матриці) з радіоактивною міткою. Недоліком цих прямих досліджень була низька чутливість і необхідність великої кількості виділеної ДНК [15].

Чутливіші ампліфікуючі методи включають метод уловлювання гібридів — МУГ (генотип-специфічні РНК проби зв'язуються з одноланцюжковою ДНК HPV, отримані гібриди уловлюються і визначаються за допомогою антитіл і хемілюмінесцентного аналізу [15] та ПЛР). Після виконання ПЛР з використанням певних праймерів, специфічний генотип HPV може бути встановлений шляхом прямого секвенування або визначення за допомогою генотип-специфічного ПЛР праймера, а також методом рестрикційного картування (мінливість розмірів фрагментів ДНК, які відщеплюються рестриктазами, обумовлена виникненням або зміною в результаті мутацій сайтів рестрикції; у зв'язку з цим аналіз дозволяє використовувати окремі алелі як маркери популяцій) [15].

Значущість встановлення взаємозв'язку між HPV і раком шийки матки залежить від чутливості до HPV методик, що застосовуються для виявлення. Schiffman і Schatzkin [16] порівняли два дослідження, що застосували різні методи визначення HPV, внаслідок чого менш чутлива методика Саузерн-блот асоціювалася з нижчим виявленням і нижчим взаємозв'язком із раком шийки матки, ніж чутливіша реакція ПЛР. Аналогічно Bosch et al. [17] порівняли ДНК-визначальні методики: Саузерн-гібридизація (метод ідентифікації специфічних форм ДНК у клітинах, що включає обробку рестриктазою й аналіз фрагментів на генному зонді), ПЛР і Virapap — комерційний набір скринінгових тестів, який може використовуватися для виявлення 7 типів HPV — із середнім рівнем чутливості й атрибутивним ризиком у 926 жінок із раком шийки матки і в контрольній групі в Іспанії.

Чутливість для Саузерн-гібридизації становила 16,3 %, ПЛР — 24,3 % (у 2,5 рази вище і в 4 рази точніше, ніж Virapap, — 6,3 % [17]. Атрибутивний ризик дорівнював для ПЛР 67 %, Саузерн-гібридизації — 33 % і Virapap — 23 %. Подальше вивчення чутливіших методик виявило співвідношення причинно-наслідкового взаємозв'язку HPV і раку шийки матки на рівні 99 % [18]. Ці дані демонструють важливість застосування найбільш чутливих методів молекулярного аналізу для молекулярно-епідеміологічних досліджень щодо значущості та точності встановлення відносних й атрибутивних ризиків.

У більшості жінок з наявністю HPV-інфекції рак шийки матки не розвивається. У зв'язку з цим завданням молекулярної епідеміології є визначення детермінант первинної інфекції, подальшого персистування онкогенної інфекції та трансформації ранніх цервікальних аномалій HPV в інвазивний рак, використовуючи масштабні проспективні дослідження у жінок із повторним кількісним визначенням HPV, цервікальних цитологічних змін і потенційних кофакторів інфікування, прогресії та інвазії [14]. Було висловлено припущення, що кількісна ПЛР може диференціювати носіїв HPV з низьким і високим ризиком розвитку раку шийки матки [8].

Подальші докази того, що HPV є як причиною, так і компонентом формування онкогенної асоціації — це результат вивчення біологічної взаємодії протеїнів HPV з клітинними протеїнами, що відповідають за контроль нормальної клітинної проліферації. Інтеграція геному онкогенного типу HPV у геном господаря приводить до експресії вірусних онкогенних протеїнів E6 і E7. Протеїн E6 інактивує P53, протеїн E7 сприяє деградації протеїну Rb. Інактивація і деградація цих двох протеїнів — супресорів пухлинного росту — безпосередньо призводить до нестабільності геному та втрати нормального клітинного контролю [18], таким чином запускаючи механізм епідеміологічного взаємозв'язку між специфічним типом HPV і раком шийки матки. Незважаючи на те, що ризик раку шийки матки був пов'язаний з курінням, в епі-

деміологічних дослідженнях встановлено, що такий взаємозв'язок спостерігався у жінок-курців з великою кількістю статевих партнерів, що також має відношення до імовірного HPV-інфікування.

У дослідженнях, в яких визначали HPV, куріння призводило до підвищення ризику подальшого розвитку інтраепітеліальної неоплазії [19]. Обмежуючи дослідження популяцій жінками з HPV, ці дані підсилюють доказ того, що куріння є потужнішим фактором ризику цервікального раку, ніж зв'язок між курінням і чутливістю до інфікування HPV.

8.2. Маркери біологічно ефективної дози

Останніми роками вивчено й охарактеризовано безліч онкогенів і генів-супресорів, активація або інактивація яких є необхідним етапом канцерогенезу. Для різних форм раку відмічена специфічність спектра мутацій та інших ушкоджень, а також їх локалізації у клітинних онкогенах і генах-супресорах. Так, наприклад, при раку легень спектр мутацій у гені-супресорі P53 відрізняється залежно від того, палив або не палив пацієнт. У клітинах раку товстої кишки, пухлин мозку, сарком у P53 присутній високий відсоток так званих спонтанних точкових мутацій у парі цитозин-гуанідин. Відсоток спонтанних мутацій у P53 низький за наявності раку легень, сечового міхура і стравоходу. При цих формах раку переважають мутації, швидше за все, пов'язані з ушкодженням ДНК канцерогенними речовинами, що містяться в тютюновому димі.

Подібні мутації за наявності раку легень виявляються у 75 % випадків, а при раку товстої кишки — у 20 % [7; 17; 18]. На прикладі раку товстої кишки людини показано, що прогресивне нагромадження ушкоджень в онкогенах і генах-супресорах призводить до прогресії пухлини і, зрештою, до її малігнізації та метастазування. Для трансформації нормальної клітини у пухлинну необхідна наявність ушкоджень, як мінімум, у 4–5 генах. Встановлений

зв'язок між мутаціями р53, що викликані ультрафіолетовим опромінюванням, і раком шкіри. Димер циклобутан-піримідину і фотопродукти піримідин-піримідону є двома найбільшими формами ушкодження ДНК після дії ультрафіолетового опромінювання. Серед циклобутан-піримідин димерів тимін-цитозин і цитозин-цитозин димери є найбільш мутагенними. Тимін-цитозин, тимін-тимін і цитозин-цитозин тимін-тимінові мутації часто трапляються в р53 секвенсі клітин ультрафіолет-індукованого раку шкіри [20; 21].

Попри те, що традиційна епідеміологія давно встановила зв'язок між впливом сонячного опромінювання і раком шкіри, специфічність взаємовідношень між ультрафіолетовим випромінюванням В і мутацією р53 дозволяє стверджувати, що інтервал довжин хвиль (290–320 нм) у сонячно-му випромінюванні є канцерогенним.

8.3. Маркери внутрішньої дози

У більшості хворих на гепатоцелюлярний рак, що проживають в регіонах, де основними факторами ризику є вірус гепатиту В та афлатоксин (токсин грибів аспергії — найсильніший гепатоканцероген із виявлених сьогодні), мутації у гені-супресорі *P53* локалізуються в кодоні 249. А в регіонах, де афлатоксин не є фактором ризику, подібних генетичних змін не виявлено. Афлатоксин є природним мікотоксином [22], який виявлено у зіпсованих продуктах, таких як земляний горіх, пшениця, соєві боби [23].

Вплив афлатоксину, вірусу гепатиту В і С та прийом алкоголю є найбільшими факторами ризику розвитку гепатоцелюлярної карциноми. Афлатоксин-нуклеїнові аддукти в сечі та сироватці крові є проміжними біомаркерами отримання біологічно ефективної дози афлатоксину. Кількісне визначення афлатоксин-сироваткових альбумінних аддуктів було проведене в деяких експериментальних і епідеміологічних дослідженнях, що дозволяє визнати цей показник значущим скринінговим маркером для масштабних досліджень [24]. У

проспективних дослідженнях рівень альбумінових аддуктів виявився вищим у тих, у кого з часом сформувався рак печінки, особливо якщо вони були носіями вірусу гепатиту В [23; 24].

Високе співвідношення пухлин печінки виявляється в афлатоксин-залежних зонах і належить до характеристики G:C соматичної мутації в кодоні 249 гена *P53*, що доповнює взаємозв'язок між сироватковим рівнем афлатоксину і ризиком раку печінки. Афлатоксин В1 індукує типові G:C — T:A трансверсії (мутації, що приводять до заміни пари нуклеотидів: спочатку відбувається заміна пуринової основи на піримідинову або навпаки) у третій основі кодону 249 *P53* [25]. Цей молекулярний маркер афлатоксин-індукованого мутагенезу дозволяє стверджувати, що афлатоксин є канцерогеном печінки людини, відповідальним за високий рівень пухлин у географічних районах з великою можливістю прийому афлатоксину з харчовими продуктами.

8.4. Маркери схильності

Найбільш загальними маркерами схильності є мутації у специфічних генах, які призводять до підвищення або зниження ризику розвитку раку. Визначення спадкових специфічних онкосайтів проводилося протягом тривалого часу, внаслідок чого встановлено, що переважна більшість пухлин людини не є спадковими, за винятком рідкісних генетичних синдромів. Спадковість більшою мірою впливає на індивідуальну схильність до розвитку раку, визначаючи особливості метаболізму канцерогенних речовин і здатність до репарації ДНК [15; 18]. Генетичні зміни, які успадковуються і з високою ймовірністю призводять до розвитку раку, зазвичай виражаються в мутаціях одного алеля гена-супресора.

Ідентифіковано деякі гени-супресори, вроджені мутації яких призводять до розвитку спадкових і сімейних форм злоякісних пухлин. До таких генів належать ген ретинобластоми (*Rb*), при мутації якого

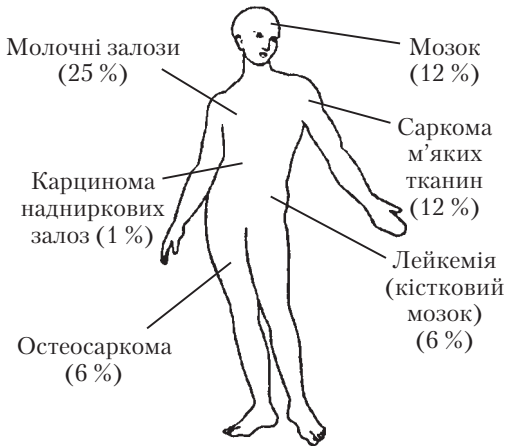


Рис. 8.1. Клінічні прояви синдрому Лі — Фраумені, пов'язаного з ембріональними мутаціями гена *P53* [1]

розвивається вроджена форма ретинобластому, ген-супресор *P53*, вроджені мутації якого є причиною синдрому первинно-множинних пухлин Лі — Фраумені (рис. 8.1); гени раку молочної залози *BRCA1*, *BRCA2*, успадковані ушкодження яких підвищують ризик не тільки раку молочної залози, а і раку яєчників; ген аденоматозного поліпозу товстої кишки (*APC*); ген неполіпозного вродженого раку товстої кишки (*HMLH1*); ген нейрофіброматозу (*NF 1*) та ін.

Відносний ризик розвитку того або іншого пухлинного синдрому у людей з вродженими мутаціями в генах-супресорах дуже великий і може бути збільшений в 1000–10 000 разів, а у деяких випадках імовірність розвитку раку сягає 100 %. Проте частота самого цього явища, тобто наявність вроджених мутацій, у край рідкісна і трапляється не частіше 1–5 випадків на 100 000 живонароджених немовлят. Відповідно низька і частка злоякісних пухлин, етіологічно пов'язаних із подібними генетичними подіями [15; 18].

Існує розподіл генів від високопенетрантної чутливості, тобто з високою ймовірністю розвитку раку у носіїв мутації, до низькопенетрантних генів, за наявності яких рак діагностується в набагато меншій кількості носіїв або тільки у тих, хто під-

дався специфічній дії екологічних факторів або способу життя, що сприяють розвитку хвороби.

Високопенетрантні мутації зазвичай ідентифікуються шляхом вивчення сімей високого ризику щодо розвитку специфічних раків або множинного раку. Аналіз генетичного зв'язку використовується для того, щоб ідентифікувати хромосомні сегменти, які спостерігаються частіше у членів сім'ї, в якій діагностовано рак, ніж у сім'ях без наявності раку. Специфічні видозмінені гени потім шукають у цих сегментах.

Варіанти низькопенетрантних генів не дають початку спадковому групуванню і розглядаються в порівнянні поширеності варіанта у серіях незалежних випадків, які часто називають асоціативними дослідженнями. Близько 5 % раку молочної залози належать до рідкісних високопенетрантних мутацій у невеликій кількості специфічних генів (*BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *PTEN* і *TP53*); мутації в *BRCA1* і *BRCA2* відповідальні за 50 % спадкового та сімейного раку молочної залози [19; 26]. Цей показник вищий при розвитку раку в молодшому віці та в сім'ях із множинним раком молочної залози і яєчників або тільки яєчників.

Кожен ген демонструє деякі відмінності у сімейному типі раку: *BRCA1* тісніше пов'язаний з раком яєчника, *BRCA2* — з чоловічим раком молочної залози, *ATM* — з радіочутливістю, *PTEN* — із синдромом Коудена (синдром множинних гамарт), *P53* — із синдромом Лі — Фраумені (виявляється підвищеною захворюваністю на саркому м'яких тканин) і великою кількістю інших пухлин.

Ці гени були спочатку ідентифіковані у сім'ях високого ризику, в яких інформація про попередні покоління використовувалася для ідентифікації хромосомної локалізації видозмінених генів. Тривале обстеження носіїв мутацій у цих генах дозволить визначити, чи залучаються інші гени в зміну віку початку або маніфестації хвороби. Дослідження близнят і сімейного анамнезу показали, що кількість раку молочної залози завдяки успадкованій чутливості істотна, і лише частина від загальної кількості виникла в результаті дії високопенет-

рантних генів. Зміни в генах, які сприяють зниженню відносних ризиків, більше звичайного, і тому відповідають за вищий ризик, ніж для високопенетрантних генів. Ці варіанти генів не дають початку класичним спадковим патологіям і вивчаються у традиційних дослідженнях молекулярної епідеміології у поєднанні з впливом способу життя і екологічними причинами. Більшість поточних досліджень розглядають генетичні варіанти в генах-кандидатах, як, наприклад, гени метаболізму стероїдних гормонів.

Майбутні підходи включатимуть повногеномний аналіз одонуклеотидних поліморфізмів (SNP) генів-кандидатів (tagging of SNPs) для виявлення найбільш типового поліморфізму. У Національному інституті раку (США) ініційована Програма CGEMS (Генетичні маркери чутливості до раку), яка спочатку фокусувалася на раку простати і молочної залози, але, враховуючи позитивні результати, розпочала дослідження злоякісних новоутворень підшлункової залози та легень, лімфоми, раку сечового міхура, інших видів (рис. 8.2). До первинного сканування 540K tag-SNPs (tag SNP — представник SNP у регіоні геному з високою нестійкістю зв'язку (non-random асоціація алелей в двох або більше локусах), використовуються в повногеномному аналізі) — було залучено понад тисячу випадків раку простати і молочної залози й аналогічна кількість контрольних випадків.

У ході покрокових досліджень отримано певну кількість SNP, яка має значну кореляцію з ризиком раку. Наприкінці процесу залишається відносно невелика кількість генетичних локусів, під час подальшого вивчення ідентифікуються причинні шляхи та механізми, включаючи ті, які можуть мати відношення до зміни геному, яка відбивається в тканинах пухлини.

Існують чотири спадкові синдроми раку прямої кишки: родинний аденоматозний поліпоз, спадковий неполіпозний рак товстої та прямої кишок (HNPCC), синдром Пейтца — Єгерса і ювенільний поліпоз. Відомо, що HNPCC несе відповідальність за 3 % з усіх карцином товстої кишки [27–29] і асоційований з мутаціями в одному або більше з декількох генів системи MMR (mismatch repair) — *hMSH2* і *hMLH1*. У нормі ці гени кодуєть репарацію непарних основ ДНК. Два людських гомологи двох бактерійних MMR-протеїнів, *hMSH2* і *hMLH1*, було виявлено на початку 1990-х при вивченні сімей з обтяженим анамнезом щодо розвитку раку товстої кишки [30].

Існують чотири спадкові синдроми раку прямої кишки: родинний аденоматозний поліпоз, спадковий неполіпозний рак товстої та прямої кишок (HNPCC), синдром Пейтца — Єгерса і ювенільний поліпоз. Відомо, що HNPCC несе відповідальність за 3 % з усіх карцином товстої кишки [27–29] і асоційований з мутаціями в одному або більше з декількох генів системи MMR (mismatch repair) — *hMSH2* і *hMLH1*. У нормі ці гени кодуєть репарацію непарних основ ДНК. Два людських гомологи двох бактерійних MMR-протеїнів, *hMSH2* і *hMLH1*, було виявлено на початку 1990-х при вивченні сімей з обтяженим анамнезом щодо розвитку раку товстої кишки [30].

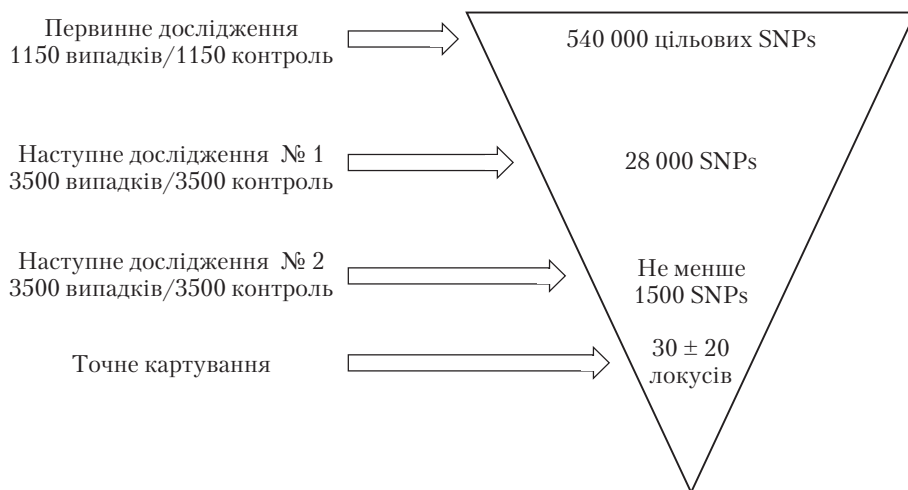


Рис. 8.2. Стратегія пошуку одонуклеотидних поліморфізмів (SNPs) [1]

Подальші аналізи більшої кількості сімей показали, що генеративні мутації у цих двох MMR-генах відповідальні за 70–90 % усіх випадків HNPCC. Можливо, що більшість випадків раку товстої кишки виникають внаслідок спадковості середньо- або низькопенетрантних алелей, в яких зовнішні впливові фактори, можливо, взаємодіють зі спадковими факторами. Наприклад, *MSH6* — низькопенетрантний ген порівняно з мутаціями *MLH1* і *MSH2*; мутації в *MSH6* асоційовані з пізнішим віком початку хвороби і відповідальні за 10 % усіх генеративних мутацій MMR-гена у пацієнтів з HNPCC [31; 32] (рис. 8.3). Подальші дослідження середньо- і низькопенетрантних алелей необхідні для того, щоб пояснити баланс співвідношення випадків раку товстої кишки з сімейним анамнезом.

Після втрати дикого типу *MSH2*- або *MLH1*-алелей, які продукують клітини з дефектами у системі репарації непарних основ, специфічні гени, включаючи рецептор II гена *TGFβ*, зазнають frameshift mutations (мутація зі зрушення фази, пов'язана з появою зайвого або з втратою одного або декількох (у числі, не кратному трьом) нуклеотидів — в результаті, починаючи з даного місця, триплетний код порушується та через неправильне прочитування мРНК синтезується абсолютно інший білок [32].

8.5. Гени чутливості: метаболізм канцерогенів і гени детоксикації

Майже всі екзогенні канцерогени потребують активації метаболічними ферментами, а ферменти детоксикації існують для того, щоб інактивувати канцерогени або їх проміжні метаболіти. Спадковий поліморфізм у цих ферментах, можливо, змінює рівень активації або детоксикації, таким чином збільшуючи або зменшуючи канцерогенний потенціал дії факторів навколишнього середовища, на які вони впливають.

До таких канцерогенів належать гетероциклічні аміни та поліциклічні ароматичні вуглеводи, які утворюються при високо-температурному приготуванні тваринних білків [33]. Гетероциклічні аміни метаболізуються низкою ферментів, зокрема N-ацетилтрансферазою 2 (NAT2). Однонуклеотидний поліморфізм екзона NAT2 є причиною появи різних форм протеїну NAT2, що ділить представників білої європеїдної раси на «повільно ацетилюючий» фенотип (близько 55 % населення) і «швидко ацетилюючий» фенотип (близько 45 %).

Цей факт є теоретичним обґрунтуванням того, що європейське населення має

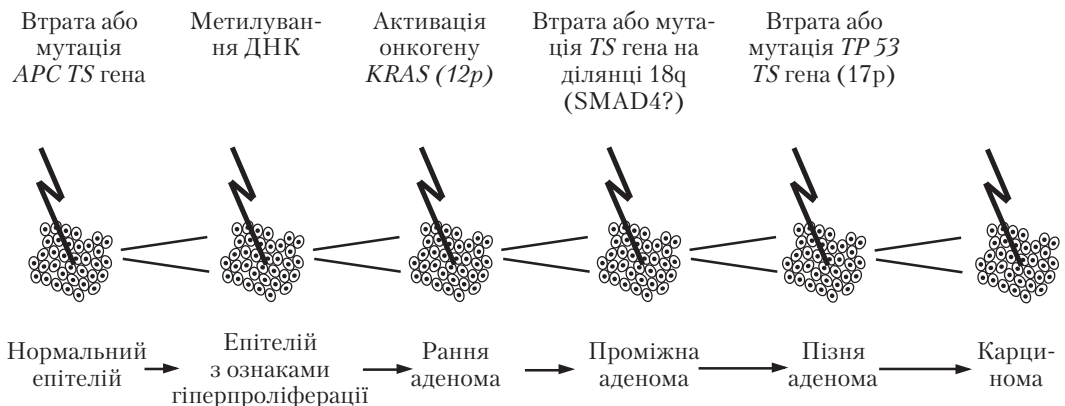


Рис. 8.3. Модель розвитку колоректального раку [32]

різну чутливість до генотоксичних ушкоджень продуктів теплової обробки м'яса. Майже всі дослідження показали, що аналіз, проведений без урахування споживання м'яса, демонструє незначні відмінності в ризику розвитку раку товстої кишки між повільно і швидко ацетилюючими фенотипами.

Оскільки знання молекулярних механізмів канцерогенезу швидко збільшуються, об'єктом дослідження молекулярної епідеміології стають додаткові генетичні шляхи, такі як репарація ДНК, контроль клітинного циклу, імунна і запальна відповідь. Гени цих варіантів є кандидатами в пошуку генетичних причин усередині популяції, які впливають на рівень ризику розвитку раку або реакції на дію навколишнього середовища.

8.6. Маркери зміненої структури або функції

Перший генотоксичний біомаркер, що асоціюється з ризиком раку, ґрунтувався на хромосомній аберації у периферичних лімфоцитах крові [34; 35]. Високорівнева хромосомна аберація була асоційована зі збільшенням випадків тотального раку в когортних дослідженнях у північних країнах і поєднувалася з підвищенням загальної летальності від раку в італійському контингенті [34]. Ці результати свідчать про приблизно двократне збільшення ризику раку серед суб'єктів із високими частотами хромосомної аберації (рис. 8.4) [36]. Відомо, що фактори, пов'язані з генетичною чутливістю, впливають на частоту хромосомної аберації у периферичних лімфо-

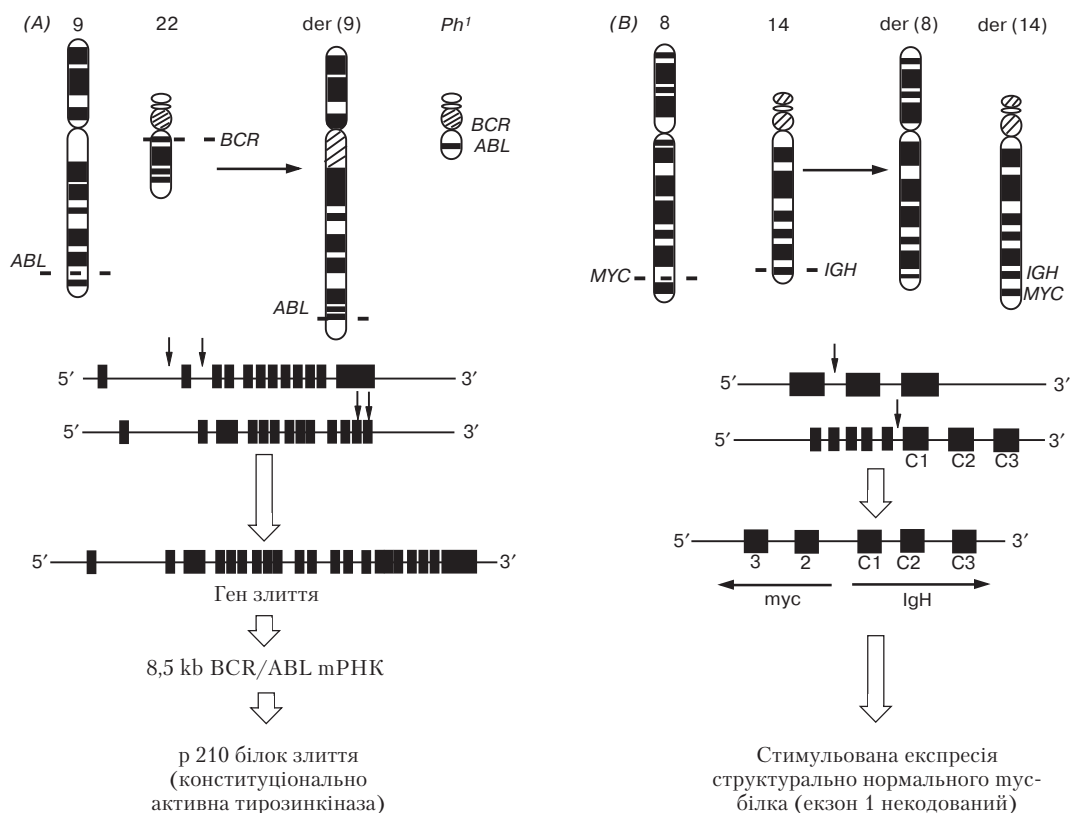


Рис. 8.4. Хромосомні транслокації, що активують онкогенез [36]

цитах крові [36]. Тому хромосомна аберація, можливо, служить інтеграційним показником чутливості, як і ДНК-ушкоджуючі фактори у популяції.

8.7. Маркери діагнозу

Традиційне формулювання діагнозу раку засноване на анатомічній локалізації та гістопатологічних ознаках. Протягом тривалого часу розглядалося припущення про те, що оскільки ці класифікації нехтують різномірністю серед пухлин схожих гістопатологічних типів, то це, можливо, означає, що існують два або більше різних видів раку, який ми зараз сприймаємо як єдине захворювання [12]. У деяких дослідженнях оцінили, наскільки фактори ризику раку молочної залози, наприклад, відмінні за рівнем естрогену та станом рецепторів прогестерону пухлин [37; 38]. В результаті цих досліджень було встановлено, що відмінності існують, хоча і потребують подальшого вивчення цього феномена. Наприклад, відносний ризик, пов'язаний з комбінованою гормональною терапією (естроген-гестаген) становив 1,67 % для пухлин із позитивними рецепторами естрогену і прогестерону порівняно з 1,21 % для пухлин із негативними рецепторами.

Розвиток методики визначення експресії генів за допомогою мікрочипів, що містять тисячі генів, дозволив перетворити розуміння пухлин, які раніше уявлялися як єдиний патологічний процес, у багатопараметрову патологію, що базується на зміні експресії генів. Для онкогематологічної патології, наприклад, дифузної В-клітинної лімфоми, експресії гена мають істотне прогностичне значення [39]. Подальша робота, що ґрунтується на масштабних дослідженнях, дозволила скоротити кількість генів, які входять у дослідження. Наприклад, шість генів (*LMO2*, *BCL6*, *FN1*, *CCND2*, *SCYA3*, *BCL2*) було вибрано з великої кількості для визначення виживання при дифузній В-клітинній лімфомі в результаті аналізу експресії генів, визначуваної за допомогою мікрочипів [39].

Перехід від методики мікрочипів до визначення специфічної RNAs або про-

теїнів, які можуть бути виявлені при використанні ПЛР у реальному часі або імуногістохімічним аналізом, дозволить вирішити питання про ефективність лікування, виходячи з молекулярного аналізу гістотипу пухлини, за допомогою методів, більш знайомих клінічним лабораторіям. Перспективою для молекулярної епідеміології є знання про підтипи пухлини, що дозволить сформулювати дизайн дослідження і здійснити одночасний аналіз як факторів ризику, так і класифікації пухлин з прогнозом результатів лікування.

8.8. Маркери прогнозу

Одним з обмежень у хіміотерапії раку є стійкість до лікарських препаратів, яка у великій мірі залежить від спадкових змін у метаболізмі ліків. Найбільш відомими генами, зміни в яких призводять до лікарської стійкості, є *MDR-1* (multidrug resistance gene-1), *MRP1* (multidrug resistance-associated protein), *BCRP1* (breast cancer resistance protein), *LRP1* (lung resistance-related protein), *GSTP1* (glutathion-S-transferase $\pi 1$).

Можна навести приклад спадкових відмінностей лікарської стійкості, який найкраще пояснює реакцію на протипухлинні препарати, — фармакогенетика тіопуринового препарату меркаптопурину і азатіоприну (імурану). Менш ніж у 1 % людей, що отримали ці фармацевтичні препарати, розвинулася мієлосупресія. Було показано, що майже всі ці люди — гомозиготні за низькоактивними алелями ключового ферменту, який метаболізує ці лікарські препарати, — тіопурин-S-метилтрансфераза (TPMT) [38].

В результаті досліджень встановлено, що носіям низькоактивного алеля і носіям двох копій високоактивних алелей необхідні різні дози цих препаратів, щоб мінімізувати токсичність і максимально підвищити протипухлинний ефект. Тому прескринінг поліморфізму цього метаболічного ферменту допоможе не тільки уникнути зайвих смертей внаслідок гострої токсичності, але і, можливо, також допоможе оптимізувати визначення лікарського дозування.

Досягнутий істотний прогрес в ідентифікації соматичної альтерації у пухлинах, який може надати допомогу в прогнозуванні ефективності лікування. Наприклад, приблизно у 10 % пацієнтів із недрібноклітинним раком легенів була зареєстрована швидка потужна відповідь на застосування інгібіторів тирозинкінази. Недавно було виявлено, що більшість цих пухлин мали активуючу мутацію епідермального гена рецептора епідермального фактора росту (*EGFR*), і тому скринінг пухлин легенів за цими мутаціями в *EGFR*, можливо, ідентифікує пацієнтів, у яких можна сподіватися на добру реакцію на ці лікарські препарати [39; 40]. Гіперекспресія аналога рецептора епідермального фактора росту, білка *HER-2/neu* (с-erbB-2), додає клітинам здатності необмеженого поділу. Введення безтимусним мишам клітин лінії раку молочної залози MCF-7 з численними копіями гена *HER-2* приводило до значного збільшення синтезу ДНК, росту клітин, туморогенності та метастатичного потенціалу. *HER-2* вважається одним із найперспективніших біомаркерів прогнозу резистентності до хіміо- й ендокринотерапії.

Ідентифіковано два нові білки, відповідальних за лікарську резистентність, — MRP (multidrug resistance associated protein) і LRP (lung-resistance-related-protein). Пацієнти з недрібноклітинним раком легенів, що характеризуються гіперекспресією MRP і мутаціями p53, мали гірший прогноз, ніж хворі без MRP і мутанта p53. Пацієнти з MRP-позитивними пухлинами, що отримували після хірургічного втручання хімотерапію, мали гірший прогноз, ніж ті, у яких MRP був відсутній [38]. Дослідження ролі експресії LRP за рівнем мРНК методом зворотної ПЛР на 14 клітинних лініях раку легенів показало значущу кореляцію зі стійкістю до цисплатину. В експериментах *in vitro* було показано, що збільшення трансляції або ампліфікація генів ферменту тимідилат синтетаза (який є мішенню для 5-фторурацилу (5-FU)) може бути пов'язане з резистентністю до 5-FU.

Нещодавно було встановлено, що протиопухлинні препарати можуть діяти через CD95 (Fas/APO-1) рецептор-лігандну систему, індукуючи експресію ліганду. Взаємо-

дія Fas-ліганду з екстрацелюлярним доменом Fas-рецептора може приводити до його тримеризації й активувати процес апоптозу. Відсутність експресії CD95-рецептора в пухлинних клітинах може призводити до їх уникнення імунологічного контролю та блокування запуску апоптозу, що викликано хімотерапією. Експресія CD95-рецептора і його зв'язок з прогнозом результату захворювання недостатньо вивчені у солідних пухлинах. Проте при гострому лімфобластному лейкозі у дітей і мієлодиспластичному синдромі експресія рецептора CD95 має прогностичне значення.

Найбільш вивченими білками, що також беруть участь в управлінні апоптозом, є продукти протоонкогену *BCL-2* і ген-супресора пухлинного росту p53. Мутації гена p53 — одні з найпоширеніших порушень, які знаходять у всіх типах пухлин людини. Більшість з них є місенс-мутаціями (зміна кодуєчої послідовності, що приводить до заміни одного функціонального кодону на інший) і подовжують час життя білка на кілька годин, що робить можливим його визначення імуногістохімічними методами на зрізах пухлин. Терапевтичний ефект деяких протипухлинних агентів пов'язаний з ушкодженням ДНК і вже повторною індукцією апоптозу. В основному, мутації білка p53 вимикають функції нормального p53, який зупиняє клітинний цикл в G1- або G2-фазі репарації ДНК. Тому мутації p53 можуть потенційно забезпечувати генетичну основу стійкості до хіміопрепаратів [40].

Інтеграція молекулярних біологічних методів у епідеміологічні дослідження пропонує цілий арсенал можливостей поліпшення розуміння причин раку, походження різних видів раку і детермінант виживання при встановленні діагнозу «рак». Унікальною особливістю досліджень молекулярної епідеміології є можливість молекулярного аналізу тканин, в яких біологічні вимірювання можуть бути проведені від моменту дії ушкоджувального фактора до моменту настання смерті. Інша особливість — можливість оцінки різноманітності дії чутливості та типів пухлини. Це потребує подальшого проведення масштабних досліджень для формування багаторів-

невих уявлень про різні елементи різнорізності. Не менш важливі також і невеликі дослідження щодо ідентифікації чутливості або наслідків з використанням точніших вимірювань факторів впливу, що мінімізують таким чином дію асоціацій онкогенних факторів.

Зрештою, здатність максимально підвищити користь нових молекулярних методів для кращого розуміння епідеміології раку залежатиме від тісної співпраці епідеміологів, молекулярних біологів і клініцистів.

Список літератури

1. *Schulte P.* Molecular epidemiology: principles and practices / P. Schulte, F. Perera. — San Diego : Academic Press, 1993. — 580 p.

2. *Сейц И. Ф.* Молекулярная онкология / И. Ф. Сейц, П. Г. Князев. — М. : Медицина, 1986 — 352 с.

3. *Украинцева С. В.* Компьютерные программы SAN и EPID; семейный анализ и эпидемиология мультифакториальных заболеваний / С. В. Украинцева // Генетика. — 1996. — Т. 32, № 1. — С. 133-136.

4. *Шварцбуд П. М.* Хроническое воспаление повышает риск развития эпителиальных новообразований, индуцируя предраковое микроокружение: анализ механизмов дисрегуляции / П. М. Шварцбуд // Вопросы онкологии. — 2006. — Т. 52, № 2. — С. 137-144.

5. *Hill A. B.* The environment and disease: association or causation? / A. B. Hill // Proc. R. Soc. Med. — 1965. — Vol. 58. — P. 295-300.

6. *Поліщук Л. З.* Сімейний раковий синдром: вирок чи засторога? / Л. З. Поліщук // Вісник Нац. акад. наук України. — 2003. — № 1. — С. 24-29.

7. *Канцерогенез* / под ред. Д. Г. Зарипдзе. — М. : Медицина, 2004. — 576 с.

8. *Viral load of human papilloma virus 16 as a determinant for development of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study* / A. M. Josefsson, P. K. Magnusson, N. Ylitalo [et al.] // Lancet. — 2000. — Vol. 355. — P. 2189-2193.

9. *Бохман Я. В.* Полинеоплазии органов репродуктивной системы / Я. В. Бохман, Е. П. Рыбин. — СПб. : Нева-Люкс, 2001. — 240 с.

10. *A population-based study of cervical carcinoma and HPV infection in Latvia* / I. Silins, X. Wang, A. Tadesse [et al.] // Gynecol. Oncol. — 2004. — Vol. 93. — P. 484-492.

11. *Norppa H.* Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms / H. Norppa // Toxicol. Lett. — 2004. — Vol. 149. — P. 309-334.

12. *Bosch F. X.* Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer — burden and assessment of causality / F. X. Bosch, S. de Sanjose // J. Natl. Cancer. Inst. Monographs. — 2003. — Vol. 31. — P. 3-13.

13. *Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide* / J. M. Walboomers, M. V. Jacobs, M. M. Manos [et al.] // J. Pathol. — 1999. — Vol. 189. — P. 12-19.

14. *Schiffman M. H.* Epidemiologic studies of a necessary causal risk factor: human papillomavirus infection and cervical neoplasia / M. H. Schiffman, P. Castle // J. Natl. Cancer. Inst. — 2003. — Vol. 95. — E2.

15. *Hubbard R. A.* Human papillomavirus testing methods / R. A. Hubbard // Arch. Pathol. Lab. Med. — 2003. — Vol. 127. — P. 940-945.

16. *Schiffman M. H.* Test reliability is critically important to molecular epidemiology: an example from studies of human papillomavirus infection and cervical neoplasia / M. H. Schiffman, A. Schatzkin // Cancer. Res. — 1994. — Vol. 54. — P. 1944s-1947s.

17. *Bosch F. X.* Test reliability is critically important to molecular epidemiology: an example from studies of human papillomavirus infection and cervical neoplasia / F. X. Bosch, S. de Sanjose, N. Munoz ; Correspondence Re: M. Schiffman, A. Schatzkin // Cancer. Res. — 1994. — Vol. 54. — P. 1944s-1947s ; 6288-6289.

18. *Human papillomavirus types 16 E6 and E7 contribute differently to carcinogenesis* / S. Song, A. Liem, J. Miller, P. Lambert // Virology. — 2000. — Vol. 267. — P. 141-150.

19. *Cigarette smoking, oncogenic human papillomavirus, Ki-67 antigen, and cervical intraepithelial neoplasia* / T. G. Harris, S. L. Kulasingam, N. B. Kiviat [et al.] // Am. J. Epidemiol. — 2004. — Vol. 159. — P. 834-842.

20. *Daya-Grosjean L.* The specificity of p53 mutation spectra in sunlight induced human cancers / L. Daya-Grosjean, N. Dumaz, A. Sarasin // J. Photochem. Photobiol. B. — 1995. — Vol. 28. — P. 115-124.
21. *A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma* / D. E. Brash, J. A. Rudolph, J. A. Simon [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1991. — Vol. 88. — P. 10124-10128.
22. *Etzel R. A.* Mycotoxins / R. A. Etzel // JAMA. — 2002. — Vol. 287. — P. 425-427.
23. *International Agency for Research on Cancer. Aflatoxins.* IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. — 2002. — Vol. 82. — P. 171-300.
24. *Evaluation of methods for quantitation of aflatoxin-albumin adducts and their application to human exposure assessment* / C. P. Wild, Y. Z. Jiang, G. Sabbioni [et al.] // Cancer. Res. — 1990. — Vol. 50. — P. 245-251.
25. *TP53 and liver carcinogenesis* / F. Staib, S. P. Hussain, L. J. Hofseth [et al.] // Hum. Mutat. — 2003. — Vol. 21. — P. 201-216.
26. *Bennett I. C.* The management of familial breast cancer / I. C. Bennett, M. Gattas, B. T. Teh // Breast. — 2000. — Vol. 9. — P. 247-263.
27. *The colon cancer burden of genetically defined hereditary nonpolyposis colon cancer* / W. S. Samowitz, K. Curtin, H. H. Lin [et al.] // Gastroenterology. — 2001. — Vol. 121. — P. 830-838.
28. *Нариси вікової токсикології* / І. М. Трахтенберг, М. М. Коршун, М. Г. Проданчук [та ін.] — К. : Авіценна, 2005. — 256 с.
29. *Генетические повреждения в ходе наследственного неполипозного рака толстой кишки* / Т. А. Штамм, О. А. Вострюхина, А. В. Гуляев [и др.] // Доклады АН / РАН. — 2004. — Т. 359, № 1. — С. 126-131.
30. *The human mutator gene homology MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer* / R. Fishel, M. K. Lescoe, M. R. Rao [et al.] // Cell. — 1993. — Vol. 75. — P. 1027-1038.
31. *Eight novel MSH6 germline mutations in patients with familial and nonfamilial colorectal cancer selected by loss of protein expression in tumor tissue* / J. Plaschke, S. Kruger, W. Dietmaier [et al.] // Hum. Mutat. — 2004. — Vol. 23. — P. 285.
32. *Анализ распределения в российской популяции некоторых генетических маркеров, ассоциированных с мультифакториальной патологией среднего и пожилого возраста* / В. Х. Хавинсон, Д. В. Соловьева, Д. Л. Стрекалов [и др.] // Мед. акад. журнал. — 2002. — Т. 2. — С. 56-66.
33. *Food heating and the formation of heterocyclic aromatic amine and polycyclic aromatic hydrocarbon mutagens/carcinogens* / M. G. Kize, C. P. Salmon, P. Pais, J. S. Felton // Adv. Exp. Med. Biol. — 1999. — Vol. 459. — P. 179-193.
34. *Исследование в области хромосом в лимфоцитах периферической крови у больных лимфомами* / О. В. Михайловская, Н. А. Викторова, О. Р. Краснова [и др.] // Цитология. — 2005. — Т. 47, № 1. — С. 83-88.
35. *Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: results from Nordic and Italian cohorts* / L. Hagmar, U. Stromberg, S. Bonassi [et al.] // Cancer. Res. — 2004. — Vol. 64. — P. 2258-2263.
36. *Epidemiological evaluation of cytogenetic biomarkers as potential surrogate endpoints for cancer* / L. Hagmar, U. Stromberg, H. Tinnerberg, Z. Mikoczy // IARC Sci. Publ. — 2004. — P. 207-215.
37. *Progesterone and estrogen receptors and mammary neoplasia in the Iowa Women's Health Study: how many kinds of breast cancer are there?* / J. D. Potter, Jr. Cerhan, T. A. Sellers [et al.] // Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev. — 1995. — Vol. 4. — P. 319-326.
38. *Risk factors for breast cancer according to estrogen and progesterone receptor status* / G. A. Colditz, B. A. Rosner, W. Y. Chen [et al.] // J. Natl. Cancer. Inst. — 2004. — Vol. 96. — P. 218-228.
39. *Prediction of survival in diffuse large-B-cell lymphoma based on the expression of six genes* / I. S. Lossos, D. K. Czerwinski, A. A. Alizadeh [et al.] // N. Engl. J. Med. — 2004. — Vol. 350. — P. 1828-1837.
40. *Взаимосвязь экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы с эффективностью неoadъювантной химиотерапии* / М. М. Цыганов, Н. В. Литвяков, Е. Ю. Гарбуков, М. К. Мерзлякова // Сибирский онкологический журнал. — 2009. — Приложение № 1. — С. 211-212 (Материалы конференции).

Розділ 9. Молекулярна епідеміологія репродукції

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF REPRODUCTION

The problem of human reproduction is one of the most important direction of molecular epidemiology, first of all for multifactorial diseases for which the parents' polymorphism is important. The investigation of parents' genetics in the specific human populations allows to develop more effective program of their prevention in the epidemiology of multifactorial diseases.

Охорона репродуктивного здоров'я населення країни є одним із пріоритетних напрямів охорони здоров'я в умовах економічної нестабільності та негативного приросту населення. Модель звуженого відтворення, яка склалася в Україні сьогодні, характеризується різким падінням сумарного коефіцієнта народжуваності з 2,0 до 1,3, зниження частки повторних народжень з 51 до 41 % [1]. На стан репродуктивного здоров'я істотно впливає соматичне та психічне здоров'я населення. Останніми роками збільшилася частка захворювань із хронічним, рецидивним перебігом, зросла кількість осіб із захворюваннями системи кровообігу, нервової системи, сечостатевої системи, інфекційними хворобами [1; 2]. Відмічено зростання психічних захворювань, алкоголізму, наркоманії. Кількість хворих на туберкульоз за останні 5 років зросла вдвічі. Велику тривогу викликає зростання захворюваності на інфекції, що передаються статевим шляхом, і СНІД, поява нових інфекційних захворювань, таких як грип (А Н1N1), і відсутність даних про їх вплив на репродуктивну систему, перебіг вагітності та післяпологового періоду [2].

Істотно збільшилася захворюваність безпосередньо репродуктивної системи у жінок. Зросла кількість порушень менструального циклу у підлітків і дорослих жінок (відповідно у 3,5 і 2 рази). Частота запальних захворювань за останні 7 років підви-

щилася в підлітків у 5,4 разу, у дорослих — в 1,3 разу. Відзначається збільшення частоти онкологічних захворювань жіночих статевих органів (у 1,1 разу). Зростання захворювань репродуктивної системи та соматичної патології зумовлює збільшення кількості ускладнень під час вагітності та пологів. В результаті цього відсоток нормальних пологів в Україні істотно знизився, що, у свою чергу, призвело до розвитку несприятливих тенденцій у стані здоров'я новонароджених дітей. Кожна третя народжена дитина має відхилення у стані здоров'я, зростає відсоток народження недоношених і незрілих дітей, зберігається високий рівень дитячої та материнської смертності. Аналіз ситуації, що склалася, дозволяє зробити висновок, що збереження і відновлення репродуктивного здоров'я є найважливішим медичним і державним завданням, розв'язання якого визначає можливість збереження та відтворення генфонду країни [3; 4].

Впровадження у практичну охорону здоров'я розвинених країн нових технологій у галузі акушерства, гінекології та неонатології, зокрема в діагностиці та профілактиці вродженої і спадкової патології, дозволило знизити перинатальну захворюваність і смертність, сформувати позитивні тенденції до зниження материнської смертності. Розшифрування геному людини у 2003 р. і поява технологій мікрочипів сприяли розвитку геномного

підходу в медико-біологічних дослідженнях. На відміну від пошуку одиничних генів або їх сімейств, стало можливим проведення повногеномного пошуку генів, відповідальних за єдину функцію, визначення їх ієрархії в розвитку цієї функції. Геномний підхід є провідним при дослідженні багатьох фундаментальних і прикладних питань репродукції людини — молекулярних аспектів фолікулогенезу, геноміки рецепторного апарату ендометрія і її порушень при невиношуванні вагітності ранніх термінів та жіночій безплідності [5; 6].

Істотний вплив на розвиток репродуктивної генетики має розробка методу вивчення молекулярно-генетичних механізмів мультифакторних захворювань, тобто аналізу генетичних асоціацій. Методологія аналізу генетичних асоціацій використовується сьогодні для вивчення генетичної схильності до ендометріозу, синдрому полікістозних яєчників, деяких форм аменореї, передчасних пологів та інших видів репродуктивної патології, що мають значну генетичну складову. На нашу думку, вивчення молекулярних аспектів репродукції людини в контексті епідеміологічних досліджень може створити основу для розробки інноваційних методів діагностики, лікування та профілактики репродуктивної і перинатальної патології [7; 8].

Молекулярна та генетична епідеміологія репродукції охоплює широкий діапазон тем, включаючи дослідження дії ушкоджувальних факторів на розвиток репродуктивної системи, запліднення і вагітності, пологи і здоров'я потомства, а також репродуктивне старіння. Епідеміологічні дослідження репродуктивної функції ускладнені деякими методологічними аспектами, які не так явно виражені в інших галузях епідеміології. Найбільш значущим аспектом є відсутність зовнішніх ознак порушень репродуктивної функції. Наприклад, за визначенням ВООЗ (1995), шлюб вважається безплідним, якщо протягом 1 року регулярного статевого життя без застосування контрацепції вагітність не настає.

Проте подружжя може не знати про наявність проблеми, поки не звернеться до лікаря, або може не звертатися до лікаря взагалі, якщо відсутність вагітності відповідає їх репродуктивним намірам. Втім, повна оцінка функціональної цілісності репродуктивної системи потребує від партнерів спроби вагітності. Загальним феноменом в епідеміології є гетерогенність ризиків, який набуває особливого значення в дослідженні репродукції, оскільки окремі індивідууми або подружні пари стикаються з повторними можливостями попередніх перинатальних результатів і зміною структури ризиків при зміні партнерів. Наприклад, цілком можлива ситуація, коли вплив токсичної дії на одного партнера з репродуктивної пари (чоловіки) виявиться у вигляді несприятливого репродуктивного результату для іншого партнера (підвищена частота спонтанних абортів).

Будь-яка спроба покінчити з причинами репродуктивної токсичності з навколишнього середовища повинна враховувати парно-специфічний аспект. Різноманітність ризиків серед обстежуваних подружніх пар може призвести до невірної відбору популяції. Наприклад, пари з тривалим анамнезом використання такого малонадійного методу контрацепції, як сперміцид, після спроби запліднення можуть мати менше шансів, ніж ті, які обрали оральну контрацепцію. Варіанти результату вагітності не є незалежними і можуть конкурувати безпосередньо один з одним. Наприклад, приблизно 25 % вагітностей перериваються до її клінічного встановлення [9]. Припустимо, що певний фактор зовнішнього середовища збільшує ризик дуже ранньої втрати вагітності, прискорюючи загибель запліднених яйцеклітин, які все одно загинули б, але на пізніших термінах під час вагітності, і були б зареєстровані клінічно як мимовільні аборти. Якби ми ставили за мету вивчити тільки мимовільні аборти, таке припущення змінило б явні втрати вагітності, що могло б навіть мати захисний характер проти передчасного переривання вагітності, тимчасом як це

«захищає» тільки від встановлення факту аборту.

Співвідношення доза-ефект для цього припущення могло б, відповідно, показати парадоксальне зниження при ширших дослідженнях [10]. Цей артефакт може спотворити висновок про те, що дослідження тільки однієї кінцевої точки означає дослідження тільки однієї частини великої картини. Іншим прикладом можуть служити вроджені вади, наприклад, трисомії, які майже завжди реєструються при народженні, але не відображають рівень з моменту запліднення, крім того, трисомія за 21-ю хромосомою поширена більше, ніж інші, але перш за все тому, що цей стан більше за інші сумісний з виживанням плода до моменту пологів. Оскільки репродуктивні результати (наприклад, ускладнення вагітності або мимовільні аборти) відносно поширені і часто мають короткий проміжок часу від моменту дії ушкоджувального фактора до ефекту, звичайні переваги досліджень типу «випадок-контроль» менш характерні для репродуктивної епідеміології. Саме тому когортні дослідження відіграють відносно важливішу роль у репродуктивній епідеміології.

Для багатьох репродуктивних досліджень об'єктом вивчення (клінічного дослідження), одиницею дослідження є пара, а не окремий індивідум. Жінка виношує вагітність, але батько забезпечує половину ядерного генетичного матеріалу. Геном батька вважають особливо значущим для розвитку плаценти. Таким чином, фактори впливу і особливості обох батьків належать до репродуктивних досліджень. Зокрема, загальні батьківські фактори впливу, наприклад, діють тільки на батька, проте можуть внести дисонанс відносно впливу на матір, і навпаки.

Таким чином, усі дослідження в галузі епідеміології репродуктивної функції повинні враховувати парно-специфічний аспект. Роль генетичних змін у сім'ї призводить до подальших труднощів. Під час вагітності геноми матері і плода можуть синергістично відповісти на ушкоджувальні

фактори, і саме ця інтеграційна дія може впливати на результат вагітності. Репродуктивні події, в різному ступені залежності, знаходяться під контролем людини. Результуючі залежності можуть виявитися суперечливими. Наприклад, тимчасова оцінка. При перехресному вивченні групи жінок репродуктивного віку очевидний ризик мимовільного аборту в подальшій вагітності буде найвищим щодо вагітностей, які закінчилися у жінок, що завагітніли незадовго до моменту інтерв'ю. Цей приклад свідчить, що мимовільний аборт, який відбувся рік тому або більше, зменшує ймовірність народження живої дитини в подальшій вагітності.

Якщо дослідник не в змозі визнати ефект «псевдочасу» і пристосуватися до цього в аналізі, помилкові асоціації можуть виникнути між ризиком мимовільного аборту і будь-якою дією, яка самотійно змінилася до теперішнього часу. Інший приклад — жінки, які змінюють партнерів між вагітностями, що може бути враховане як заміна дії в її навколишньому середовищі, нова дія на її імунну систему антигенно іншою спермою або ж відносно довга перерва між вагітностями.

Чисельність групи ризику не можна легко прорахувати в репродуктивних дослідженнях. Наприклад, дослідження ранньої втрати вагітності потребує, щоб усі запліднення були ідентифіковані, тому що набір усіх запліднень становить групу ризику. Ця мета недосяжна хоч би тому, що існуючі методи не можуть ідентифікувати зачаття, які зазнають невдачі до моменту імплантації. Більш здійсненна мета полягає в тому, щоб ідентифікувати всі зачаття, які виживають достатньо, щоб імплантуватися і виробити можливі для реєстрації рівні гормонів вагітності, людського хоріонічного гонадотропіну. На жаль, алгоритми, які використовують у гормональних дослідженнях для ідентифікації короткочасних запліднень, можуть призвести до безлічі хибнопозитивних і хибнонегативних результатів.

Як інший приклад можна навести дослідження мимовільних абортів, коли жінка сама повинна знати про наявність вагітності, щоб бути в змозі повідомити про мимовільний аборт, при цьому увага жінки до можливості зачаття може залежати від варіабельності досліджуваних. Існує також проблема обліку індукованих абортів (за допомогою медикаментозних препаратів).

Легко спотворює результати репродуктивних досліджень невірне тлумачення жінкою причинної залежності. Наприклад, жінки з ускладненнями вагітності частіше (позапланово) відвідують акушера-гінеколога внаслідок підвищеного неспокою, формуючи помилку в оцінці ефекту пренатального спостереження. Фахівці з економетрики називають це явище ендегенністю (ендегенність — комплекс внутрішніх факторів середовища, явищ, що істотно впливають на еволюцію процесів).

Іншим прикладом є жінки, у яких не було успішної вагітності і які ймовірніше можуть мати більше можливості піддаватися впливу професійних факторів, ніж жінки з маленькими дітьми, які знаходяться удома. Це явище називають «ефектом працюючих жінок, які страждають на безплідність» (або ефектом репродуктивно хворих працюючих). Воно може призвести до помилкових асоціацій між професійною дією і несприятливими репродуктивними результатами.

Достовірність повторних результатів для жінки або пари пропонує дослідницькі можливості, які не використовуються в багатьох інших галузях епідеміології. Один із найсильніших факторів ризику для несприятливих репродуктивних результатів — виникнення аналогічного результату в попередній вагітності жінки. Цей приклад відкриває нові можливості для аналітичних досліджень. Наприклад, можливо досліджувати відносні внески екологічних і генетичних причин в даному оточенні, вивчаючи ризик повторення у жінок, які міняють або не міняють партнерів між вагітностями, або тих, хто не міняє партнера,

але піддається дії інших факторів навколишнього середовища.

Інша можливість полягає в проведенні клінічних випробувань серед жінок групи високого ризику. Наприклад, клінічні випробування серед жінок, у яких раніше народилася дитина з вродженою вадою нервової трубки, забезпечили ефективний доказ переваг фолієвої кислоти в профілактиці цієї вади, приводячи, насамкінець, до змін у допологових рекомендаціях для всіх жінок. Істотна ймовірність ризику повторних ускладнень також є аналітичною пасткою.

Деякі дослідники застосовують для попередніх результатів оцінку етіологічних асоціацій. Проте це, у свою чергу, може призвести до помилок, якщо досліджувані дії впливали і на поточний, і на минулий ризик.

Зважаючи на загальні проблеми, звернемося до аналізу репродуктивних результатів з погляду сучасних генетичних і молекулярних технологій. Вплив ушкоджувальних факторів може виявитися як у змінах органів репродукції, так і ендокринної системи. Маніфестація подібної відповіді може включати зміни сексуальної поведінки, зниження фертильності, несприятливі результати вагітності, модифікації інших функцій, залежних від репродуктивної системи.

Механізми, які лежать в основі відповіді репродуктивної функції на ушкоджувальну дію, надзвичайно складні (рис. 9.1).

Наприклад, при вагітності ступінь дії визначається несприятливим впливом на плід внаслідок дії на будь-кого з батьків до зачаття, а також в період внутрішньоутробного або постнатального розвитку (від народження до статевого дозрівання). Основними ознаками дії є внутрішньоутробна загибель плода, аномалії розвитку, функціональні розлади. Як показують дослідження, виникнення аномалій розвитку найочевидніше при дії шкідливих факторів на батьківський організм. Прикладом може служити синдром Прадера — Віллі — вроджений дефект, що характеризується гіпо-

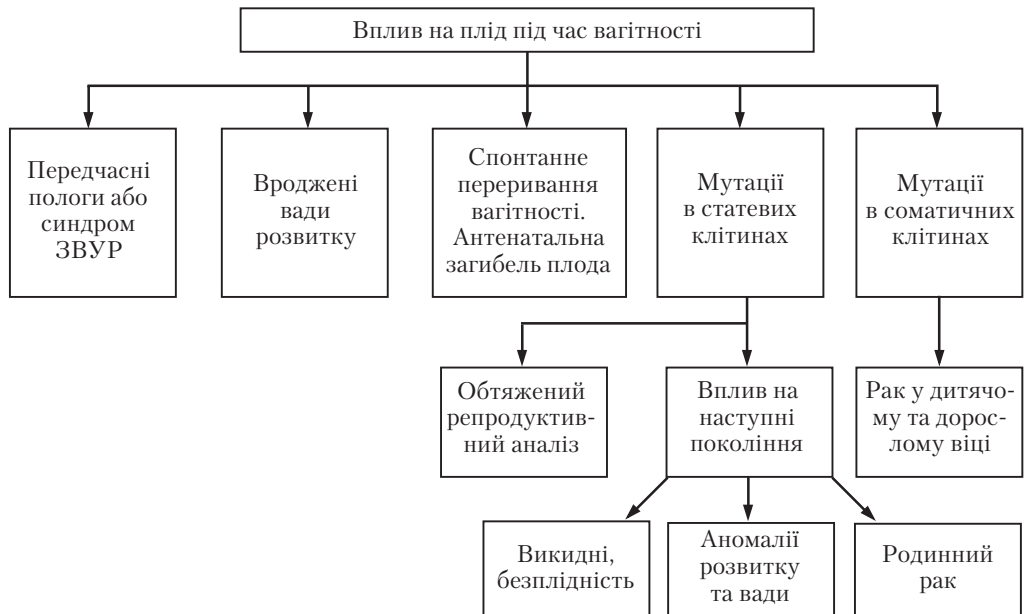


Рис. 9.1. Фактори впливу на плід під час вагітності [60]

тонією в період новонародженості та в пізнішому віці, ожирінням і поведінковими порушеннями, асоціюється зі шкідливим впливом вуглеводів на організм батька. Інші дослідження показали зв'язок між дією фізичних агентів на батьківський організм до зачаття і вродженими вадами, зловідомими новоутвореннями у дітей, тобто професійний вплив на батька іонізуючої радіації, пов'язаний з підвищеним ризиком розвитку дефектів нервової трубки, розвитку лейкемії у дітей.

У низці досліджень було показано наявність зв'язку між дією на батька електромагнітних полів до зачаття і розвитком пухлин мозку у дітей. Абсолютно ясно, що деякі вроджені вади розвитку невідомої етіології містять генетичний компонент, який може мати відношення до змін батьківського геному унаслідок дії ушкоджувальних факторів. Встановлений зв'язок між віком батька і відсотком мутацій у дитини дозволяє припустити, що інші батьківські фактори і дії на організм батька можуть бути пов'язані з генними мутаціями плода. Простежується чіткий зв'язок між

порушеннями кількості хромосом і віком матері, що дає можливість висловити думку про причину хромосомних порушень як материнської компоненти. У міру збільшення знань про людський геном розширюється можливість виявлення більшої кількості вроджених вад розвитку, пов'язаних з мутаціями в ДНК окремих генів або структурними змінами ділянок хромосом.

9.1. Генетичні фактори в репродуктивній епідеміології

Оскільки вроджені вади й ускладнення вагітності виникають під час пренатального періоду, вважають, що геном матері може відігравати в цьому головну роль. Наприклад, особливості генотипу матері може ослабити її здатність до метаболізму токсичних речовин під час вагітності. Таким чином, досліджуючи генетичні компоненти ризику перинатальних ускладнень, потрібно враховувати обох індивідів і вважати одиницею вивчення при вродже-

них вадах пару мати-ембріон. Якщо вивчати тільки генотип дитини або тільки генотип матері, потенціал помилки може бути дуже високим через тісну кореляцію між генотипами матері і ембріона. Отже, ретельно розроблене дослідження типу «випадок-контроль» повинно включати пари випадків мати-дитина для контрольної групи. Не виключається альтернативний проект, який може бути корисним при вивченні вроджених вад, ускладнень вагітності і умов початку життя дитини, наприклад сімейний аналіз.

У цьому разі генотипуванню піддають дітей з вродженими вадами і обох батьків, якщо можливо — дідусів і бабусь. У такому проекті можуть бути ідентифіковані алелі, що асоціюються зі спадковим ризиком, оскільки вони будуть виявлені у дітей з вадами більше, ніж припускає менделівська трансмісія. Цінність генетичного аналізу в цьому разі полягає у порівнянні загальної кількості трансмісій від гетерозиготних батьків до дітей з вродженою вадою з біноміальним розподілом. При проведенні сімейного аналізу можливе дослідження діалельних локусів, враховуючи, що кожна людина є носієм 0, або 1, або 2 копій варіантів алелей (не має значення, який алель названий варіантним).

Орієнтуючись на тріо генотипів (матері, батька і дитини), кожен сім'ю зараховують до одного із 15 можливих осередків у контингентній таблиці генетичних наслідків сімейних генетичних результатів. Результуюче мультиномінальне число може бути проаналізоване за допомогою стратифікованої регресії Пуассона, яка проводить оцінку двох відносних параметрів ризику, що асоціюються з 2 або 1 копією відповідно варіантних алелей, успадкованих потомством, розглядаючи 0 копію як референтну категорію. Незважаючи на відсутність контролю, статистична значущість цього підходу часто перевершує інші тести і подібна до дослідження «випадок-контроль» з тією ж кількістю випадків і еквівалентною групою контролю. Тому порівняно з проектами «випадок-контроль», які вив-

чають випадки у матерів, підхід «випадок-батьки» забезпечує таку ж точність і значущість, потребуючи меншої кількості індивідумів для генотипування.

Згідно з генетикою Менделя, потомство повинне мати 0, 1, або 2 копії з очікуваним підрахунком клітин зі співвідношенням 1:2:1. Якщо, натомість, ми досліджуємо сім'ї, в яких у дитини є певна вроджена вада, можна стверджувати, що очікуваний підрахунок покаже співвідношення 1:2: R_1 ; 1:2: R_2 , де R_1 і R_2 є відносними ризиками, пов'язаними зі спадковістю 1 або 2 копій різних алелей. Цей зразок мультиплікативний і відповідає прямо пропорційній моделі регресії Пуассона, яка означає, що максимальна імовірна оцінка та довірчі інтервали можуть бути отримані для параметрів відносного ризику, використовуючи широко доступні статистичні набори. Якщо встановлені материнські генетичні ефекти, внаслідок яких фенотип матері під час вагітності ушкоджує її потомство, цей вид причинного механізму формує асиметрію між батьками дітей, які є носіями більшої кількості копій материнських алелей чутливості, ніж батьківських. Просте розширення тієї ж самої моделі Пуассона адаптує такі материнські ефекти і дозволяє відрізнити їх від прямого впливу внаслідок успадкованого генотипу дитини.

Підхід «випадок-батьки» має низку практичних і теоретичних переваг перед проектом «випадок-контроль». По-перше, для нього необхідні тільки сім'ї, в яких виявлена патологія, тобто ті, хто підлягає вивченню. Цей проект також уникає відбору контрольної групи порівняння, що завжди є одним із найпроблематичніших аспектів досліджень «випадок-контроль». По-друге, підхід «випадок-батьки» відносно стійкий проти суб'єктивних упереджень завдяки самостійному відбору. Генетична «стратифікація популяції», яка виникає, якщо підгрупи прагнуть уникати репродукції з іншими підгрупами, а також відрізнятися за поширеністю алеля і базовим ризиком хвороби, — одне з потенційних джерел суперечностей, якого можна

уникнути в проектах «випадок-батьки», проводячи аналіз материнських генотипів.

Деякі дослідники свідчать, що генетична стратифікація не є істотним джерелом помилки у визначенні різноманітності населення. Можна також розширити цю модель, щоб проаналізувати ефекти генетичного імпринтингу, який виникає, коли дія одного й того ж алеля може бути різною залежно від того, прийшов він від матері чи від батька. Значущість цього аналізу підвищується, наприклад, у разі генетичного імпринтингу в аутизмі.

Нарешті, статистичні методи відновлення пропущених даних (missing-data) можуть застосовуватися, щоб домогтися повного використання даних з неповних тріад, навіть якщо missing-data механізм залежить від відсутнього генотипу.

Прикладом об'єднання ризиків і потенціалом для синергістичних ефектів ембріональних і материнських генотипів щодо пари «матір-плід» може служити механізм їх несумісності за Rh-фактором, який досить добре відомий: якщо мати Rh-негативна (два нульових алелі) і раніше була сенсibilізована Rh-позитивним плодом, а плід поточної вагітності має Rh-позитивний статус, то у плода (або новонародженого) може розвинути гемолітична хвороба. Прямо пропорційна модель була розширена, щоб виявити такі інтерактивні причинні механізми. Несумісні генотипи «матір-плід», можливо, також пов'язані з ризиком шизофренії у потомства. Тому проект «випадок-батьки» пропонує можливість вивчати материнські ефекти, ефекти батьківського походження і плодово-материнські взаємодії, які було б складно встановити у проекті «випадок-контроль». Продовження прямо пропорційної моделі також дозволяє досліджувати взаємодію ген-насколишнє середовище в мультиплікативному масштабі.

Примітно, що проект «випадок-батьки» не розв'язує проблем «основних» ефектів дії без доповнення контролю популяцій. Проте використовуючи регресію Пуассона, можна оцінити головні ефекти генотипів

«матір-плід» і відмінності від мультиплікативних об'єднаних ефектів між генотипами і безумовними діями. Як мати, так і плід (потомство), або обидва можуть піддатися дії релевантного фактора. Взаємодії між генотипами і безперервними діями, такими як кількість викурених сигарет, можуть бути вивчені в близько зв'язаній структурі шляхом пошуку очевидних «ефектів» дії у потомства на зразках передачі алеля від батьків до потомства, що оцінюється політомною логістичною регресією. Недоліком проекту «випадок-батьки» є його нездатність оцінити «головні» ефекти дії, хоча цей проект можна використовувати для вивчення мультиплікативних взаємодій типу ген-насколишнє середовище.

Третя альтернатива — гібридний проект, який використовує кращі можливості підходу «випадок-батьки» і аналізу популяції «випадок-контроль». Згідно з припущенням, що хвороба рідкісна і що частота трансмісії Менделя оцінюється у загальній популяції, цей проект дозволяє ефективно оцінити параметри дії, пов'язані з ризиком в мультиплікативному формулюванні. У такому аналізі результатом є кількість копій, які успадкувало потомство, щодо батьківських генотипів. Зручна особливість цього підходу полягає в тому, що необхідно прийняти спадковість Менделя як нульову, і таким чином кожний отримує надійну стійкість проти потенційного впливу генів (і будь-яких генетичних корелятив) на виживання в умовах вагітності. Висновок заснований на тому, чи змінюється розподіл генотипів потомства щодо батьківських генотипів шляхом аналізу кількісних особливостей. Розширення також враховують об'єднання даних рис від багатократного потомства у тій же самій сім'ї.

Придатність інструментів для генотипування, без сумніву, приведе до створення нових проектів епідеміологічних досліджень. Оскільки висунуті нові біологічні гіпотези, можливості для аналізу взаємодії генетичних і екологічних факторів в найближчому майбутньому розширяться. Це розширене дослідження, можливо, має ве-

лике значення для розуміння не тільки вроджених вад, але й інших проблем репродукції, вагітності та розвитку плода.

9.2. Генетичні фактори вроджених вад розвитку

У 1941 р. сер Норманн МакАлістер Грегг, офтальмолог з Австралії, пов'язав спалах краснухи з появою рідкісної вади розвитку очей у новонароджених, що привело до відкриття синдрому краснухи і змінило медичну догму про те, що плід повністю захищений плацентою від несприятливих дій.

У 1961 р. був спростований наступний постулат: доведено зв'язок між застосуванням талідоміду під час вагітності та розвитком вад кінцівок у плода. Цей ефект став пусковим моментом формування парадигми шкідливої дії на плід, яка могла бути заподіяна плоду речовинами-токсикантами, ушкоджувальними агентами, які не є шкідливими для інших ссавців і матері. Ймовірно, найшокуючим виявилось відкриття в 1971 р., що діетилstilbестрол є трансплацентарним канцерогеном, який призводить до розвитку рідкісної форми раку в дорослому житті. Цей факт продемонстрував можливість небезпечної дії на плід, яка не є очевидною при народженні, а виявляється лише після десятилітнього віку.

Незважаючи на ці відкриття і безперервний розвиток епідеміологічних досліджень, пов'язаних із вродженими вадами, причини більшості з них досі невідомі.

За матеріалами ВООЗ, 4–5 % усіх дітей з'являються на світ з вродженою патологією. Згідно з визначенням ВООЗ, вроджена вада розвитку — це така, що виникла внутрішньоутробно або встановлена при народженні стійка морфологічна, біохімічна або молекулярна зміна органа, системи органів, частини тіла або всього організму і виходить за межі варіацій будови та порушує його функцію. Вади розвитку, що не супроводжуються функціональними порушеннями, частіше називають вродженими

аномаліями (наприклад, деформації вušних раковин не спотворюють особи хворого, істотно не позначаються на сприйнятті звуків). Серед 1000 народжених живими у середньому 10 дітей страждають на моногенні, 6 — на хромосомні хвороби, у 20 виявляються вроджені вади розвитку, зокрема інфекційного походження, майже у 10 дітей — хвороби з вираженою спадковою схильністю. Приблизно 10 % з них гинуть у перший рік життя. Серед усіх дітей, що дожили до 7 років, 5 % мають порушення розвитку.

Проте дійсний біологічний рівень вроджених вад визначити неможливо. Більшість із них виникають на найраніших стадіях вагітності, коли проведення обстеження фактично неможливе. Більша частина ембріонів із вродженими вадами гинуть на ранніх термінах вагітності. Отже, навіть ідеальна точність діагностики вади при народженні не відображає її дійсного рівня. Реєстрація вад при народженні також достатньо проблематична. Вроджені вади є гетерогенними і не всі очевидні при пологах. Більшість серцевих пороків, наприклад, можуть не виявлятися до виписування з пологового будинку, деякі можуть не маніфестувати до підліткового і репродуктивного періоду. Затримка розумового розвитку не є очевидною одразу після народження, а більш тонкі відхилення неврологічного розвитку ніколи, можливо, не будуть пов'язані з походженням у пренатальному періоді. При ретельному обстеженні основні вроджені вади можуть бути виявлені приблизно у 3 % немовлят при народженні та у 3 % — на пізніших етапах. Незначні вади поширені більше. Регістри популяцій, які залежать від звичайного контролю новонароджених, вважають загальну поширеність вроджених вад у діапазоні 2–3 %. Дослідження типу «випадок-контроль» вроджених вад можуть використовувати короткострокову оцінку тератогенних ефектів. Відповідне вікно дії шкідливих факторів для більшості вад знаходиться в межах першого триместру вагітності. Хоча цей вибір часу дії визначається декількома місяцями після ідентифікації вади, у більшості випадків вибір часу дії навіть у ме-

Таблиця 9.1

Коефіцієнти спонтанного ризику народження дитини з вродженими вадами розвитку у жінок різного віку [21]

Спонтанний ризик вродженої вади розвитку, %	Вікові когорти жінок, років							
	До 20	20–24	25–29	30–34	35–39	40–44	45–49	Усі когорти
Залежний від віку матері	0,2	0,2	0,2	0,3	0,8	2,4	8,5	0,4
Не залежний від віку матері	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6	5,6
Сумарний ризик	5,8	5,8	5,8	5,9	6,4	8,0	14,1	6,0

жах цього інтервалу ембріонального розвитку може бути кардинально важливим (табл. 9.1).

У перинатальній епідеміології більшість досліджень генів і зовнішніх впливових факторів включають використання біохімічних, генетичних і молекулярних біомаркерів для пошуку екологічних причин вроджених вад. Цю модель можна легко розширити для одночасного пошуку генетичних факторів ризику та результатів взаємодії ген-наколишнє середовище, щоб пояснити складну етіологію найбільш розповсюджених вроджених вад. Нині виконуються подібні дослідження спільно кількома Національними програмами із запобігання вродженим вадам розвитку й академічними установами усього світу. Методи діагностики на пренатальному етапі можна розділити на дві групи — скринуючі, призначені для виділення груп високого ризику антенатальної патології, тобто для обстеження вагітних, і верифікуючі, які включають цитогенетичний, молекулярно-генетичний, біохімічний, мікробіологічний і серологічний аналіз. Останніми роками, на додаток до відомих, розроблені методи діагностики хромосомних хвороб плода, зокрема, швидкі прямі методи каріотипування клітин біопатів хоріона і плаценти із застосуванням диференційних способів забарвлення хромосом високої роздільної здатності. Освоєні та використовуються для пренатальної діагностики найсучасніші методи хромосомного аналізу — гібридизація *in situ* з хромосомо-специфічними ДНК-зондами. Впровадження методів молекулярної та генетичної

технології в перинатальну практику дозволило значно розширити можливості діагностики найбільш тяжких і соціально значущих генних хвороб: муковісцидозу, гемофілії А і В, міодистрофії Дюшенна, синдрому ламкої Х-хромосоми (fragile-X syndrome), фенілкетонурії, хвороби Віллебранда, міотонічної дистрофії, хореї Гентінгтона.

За етіологічною ознакою доцільно розрізняти три основні групи вад — спадкові, екзогенні, мультифакторні. Спадкові вади — це ті, що виникли в результаті мутацій (стійких змін спадкових структур) у гаметах або зиготі. Залежно від рівня мутації вади підрозділяють на генні та хромосомні. Екзогенні вади обумовлені дією тератогенних факторів безпосередньо на ембріон або плід. Тератогенні вади можуть фенотипно нагадувати генетично детерміновані, в таких випадках їх називають фенокопіями. Мультифакторні вади виникають в результаті спільної дії генетичних і екзогенних факторів, причому жоден із них окремо не є причиною розвитку вади. Очевидно, що таке розділення дещо умовне, оскільки генні та хромосомні мутації, що лежать в основі спадкових вад, також індуковані різними факторами.

Залежно від часу дії факторів, що індукують розвиток вади, всі вроджені вади можуть бути розділені на гамеопатії, бластопатії, ембріопатії, фетопатії. Найбільш поширеною є класифікація ізольованих і системних вроджених вад розвитку, в основу якої покладений не етіологічний, а анатомо-фізіологічний принцип поділу тіла людини на системи органів. Саме за цим

принципом побудована класифікація ВООЗ, рекомендована для обліку хвороб і причин смерті (табл. 9.2).

Множинні вроджені вади розвитку доцільно підрозділяти за етіологічним принципом [13].

Основні принципи взаємозв'язку між дією на плід будь-яких тератогенів і формуванням вади визначаються такими факторами: специфічність, час дії та доза. Ці фактори пояснюють виникнення специфічних вроджених вад у результаті дії певних тератогенів, термінаційні періоди для різних органів і систем, що є критичними періодами для формування вродженої вади відповідного органа, системи або кількох систем та існування порога концентрації, нижче за який статистична достовірність тератогенного ефекту мізерно мала. Виділяють тератогенні фактори біологічної (інфекційної), фізичної та хімічної природи.

Серед біологічних факторів значну роль відіграють інфекційні агенти, особливо представники групи TORCH. Особливого значення набуває у цьому контексті вірус грипу H1N1. Радіаційна дія може викликати вроджені вади, порушуючи поділ клітин й органогенез. Метаболічні порушення у матері, наприклад цукровий діабет, спричиняють 10–15 % ризик виникнення у дітей вроджених вад серця, скелета, ЦНС. Основним тератогенним фактором є гіперглікемія. За наявності фенілкетонурії у матері майже завжди формуються вроджені дефекти ЦНС у плода внаслідок надмірної концентрації метаболітів фенілаланіну.

У більшості моніторингових систем обов'язково проводяться облік і реєстрація 19 нозологічних вад розвитку, а також синдрому Дауна і комплексу множинних вад розвитку. Вибір цих певних нозологічних форм обумовлений, по-перше, відносною

Таблиця 9.2

Класифікація вроджених вад розвитку [60]

Класи вроджених вад розвитку	Основні категорії вроджених вад розвитку	Зустрічальність
А. Вроджені вади розвитку органів і систем:	Структурні/метаболічні порушення	
1. Вади ЦНС і органів чуття	Серцево-судинної системи	1 на 115 000
2. Вади обличчя та шиї	Кістково-м'язової системи	1 на 130 000
3. Вади серцево-судинної системи	Клишоногість	1 на 735 000
4. Вади дихальної системи	Незарощення верхнього піднебіння	1 на 930 000
5. Вади органів травлення	Сечової системи та статевих органів	1 на 135 000– 1 на 235 000
6. Вади кістково-м'язової системи		
7. Вади сечової системи	Вади ЦНС і органів чуття	1 на 8000
8. Вади статевих органів	Аненцефалія	1 на 2000
9. Вади ендокринних залоз	Спинномозкова грижа (<i>spina bifida</i>)	1 на 60 000
10. Вади шкіри та її придатків	Хромосомні синдроми	
11. Вади посліду	Синдром Дауна	1 на 90 000
12. Інші вади	Вади дихальної системи	1 на 35 000
Б. Множинні вади розвитку:	Метаболічні порушення	
1. Хромосомні синдроми	Фенілкетонурія	1 на 12 000
2. Генні синдроми	Вроджені інфекції	
3. Синдроми, обумовлені дією екзогенних факторів (багатофакторні)	Сифіліс	1 на 2000
4. Синдроми нез'ясованої етіології	СНІД	1 на 2700
5. Множинні вади невідомої етіології	Краснуха	1 на 100 000
	Інші	
	Rh-конфлікт	1 на 1400
	Фетальний алкогольний синдром	1 на 1000

однозначністю діагностики, по-друге, тим, що всі вони діагностуються за час знаходження дитини в пологовому будинку, що повинне сприяти оперативності ухвалюваних рішень при збільшенні частоти конкретних вроджених вад розвитку. Відомо, що повний генетичний моніторинг, тобто облік усіх носіїв мутацій, практично неможливий. Тому зусилля учених спрямовані на пошук клініко-генетичних маркерів, що дозволяють підійти до кількісної оцінки тератогенних і мутагенних ефектів. Одним із найбільш об'єктивних і достатньо чутливих маркерів генотоксичності, у тому числі і радіаційної дії, є вроджені вади розвитку. Це обумовлено не тільки їх достатньо високою частотою, але і високим генетичним внеском в оцінку сумарного генетичного ризику (табл. 9.3).

До невирішених питань генетики людини належить оцінка впливу «малих» мутацій, які при взаємодії з іншими мутаціями можуть істотно впливати на здоров'я

людини. Малі мутації, за даними І. Е. Воробцової [8], можуть призвести до біологічної неповноцінності потомства, зниження стійкості організму до дії несприятливих (зокрема інфекційного) факторів, скорочення тривалості життя. Хромосомні мутації всіляких типів трапляються приблизно в одному випадку на кожні 100 дітей, що народилися живими. До того ж приблизно у п'яти з кожних 100 живонароджених дітей є окремі порушення в результаті генних мутацій. Сюди входить і невстановлена кількість летальних мутацій, що викликають загибель ембріона або плода. Переважну більшість мутацій слід вважати патологічними. Окремі висловлювання про нібито корисність деяких мутацій для еволюції людини є непереконливими у зв'язку з тим, що в людському суспільстві роль природного відбору значною мірою ослаблена і більшість дітей (у тому числі й зі спадковими дефектами), що народилися, виживають [9]. Домінантні мутації у статевих

Таблиця 9.3

Спонтанний рівень генетичного ризику у жінок різного віку [9]

Спонтанний ризик вроджених вад розвитку, %	Вікові когорти жінок, років				В усіх когортах
	15–34	35–39	40–44	45–49	
Кількість жінок у групі, млн	39,0	9,1	8,8	8,4	65,3
Кількість новонароджених, тис.	3995	269	82	12	4358
Із них з синдромом Дауна:					
%	0,1	0,5	1,1	1,8	0,15
абс.	3995	1345	902	216	6458
Вікове розподілення новонароджених із синдромом Дауна, %	61,9	20,8	14,0	3,3	100
Загальна кількість новонароджених із генетичними захворюваннями, залежними від віку матері	18 883	6345	4271	1007	30 506
Загальна кількість новонароджених із генетичними захворюваннями, не залежними від віку матері	131 835	8646	2706	396	143 814
Усього новонароджених із генетичними захворюваннями	15 071	14 991	7077	1403	174 320
Частка новонароджених із генетичними захворюваннями (спонтанний рівень генетичного ризику), %	3,8	5,6	8,6	11,7	4,0

вих клітинах виявляються зазвичай відразу ж, проте часто перебігають непоміченими, оскільки вони не сумісні з виживанням і можуть стати причиною викиднів на ранніх термінах вагітності. Наслідком рецесивних мутацій можуть бути генетичні хвороби, розвиток фізичних порушень у подальших поколіннях. Таким чином, слід чекати третього-п'ятого покоління, щоб мати можливість оцінити розмір генетичного збитку.

9.2.1. Моногенні мутації

Моногенні мутації є причиною вад або зміни у генах, які можуть передаватися з покоління в покоління. Найбільш часті форми спадковості включають автосомно-домінантні, автосомно-рецесивні, Х-зчеплені рецесивні та нові домінантні мутації. Моногенні мутації можуть призводити як до структурних, так і функціональних вроджених вад, які можуть також бути ізолюваними або бути частиною певного синдрому, можуть призводити до фенотипних варіацій, в яких один і той же ген мутанта є причиною різних клінічних станів. Це часто відбувається з домінуючими мутаціями, наприклад, синдром Марфана. Існують генетичні порушення, які при зниженні пенетрантності генів не у кожного індивідуума з генетичною мутацією призводять до розвитку патології. Вони також відомі як «німі» порушення.

9.2.2. Автосомно-домінантні порушення

Прикладом автосомно-домінантного захворювання є ахондроплазія — найчастіша форма карликовості у людини. Ахондроплазія супроводжується повною пенетрантністю, тобто кожний індивідуум з генетичною варіацією гена рецептора типу 3 фактора росту фібробластів (134934, ген *FGFR3*, 4p16.3, 26 алелей, картований на хромосомі 4p16.3), має клінічні прояви і виникає у 1 із 25 000 новонароджених. Ахондроплазія — патологія росту, що характеризується укороченням кінцівок, не-

пропорційно великою головою і аномальними рисами обличчя, супроводжується розвитком гідроцефалії, патології хребта, синуситами, ортопедичними проблемами. Якщо у одного із батьків виявлена ахондроплазія, існує 50 % ризику її виникнення у потомства. Якщо ахондроплазія виявлена в обох батьків, є 25 % ймовірність успадкування двох генетичних копій. Дві мутації в *FGFR3* призводять до 98 % усіх випадків ахондроплазії. Ці особливості полегшують діагностику і прогноз захворювання на пренатальному етапі.

Інший автосомно-домінантний стан — синдром Марфана, який виникає внаслідок дефекту синтезу, секреції й утилізації протеїну фібриліну 1 — важливого компонента сполучної тканини. Ген синдрому Марфана — фібрилін 1 (*FBR1*). Особливості цього синдрому включають серцево-судинні, скелетні та очні вроджені вади. Синдром Марфана є одним із найсерйозніших станів, що супроводжуються ризиком раптової смерті в результаті дефекту розшарування аорти. Приблизно 75 % індивідуумів із синдромом Марфана мають сімейний анамнез захворювання. Оскільки синдром є автосомно-домінантним, існує 50 % ризику успадкування видозміненого гена у потомства. Стан належить до повного пенетрантного. Діагноз може бути встановлений під час вагітності на ранніх термінах при аналізі ДНК плода, отриманої з біоптату ворсин хоріона або пізніше із клітин плода з навколоплідної рідини.

9.2.3. Функціональні вроджені вади

Синдром ламкої Х-хромосоми (fragile-X syndrome) — найчастіша причина спадкової затримки розумового розвитку — виникає у 1 із 1000 новонароджених. Це порушення викликає розширення секції триплетних нуклеотидних основ у гені *FMR-1* на Х-хромосомі. Повторення трійки — триплетної послідовності в гені — це аномалія, яка призводить до порушення структури протеїну. Оскільки патологія сто-

сується X-хромосоми, ця вада частіше виникає у чоловіків, ніж у жінок. У чоловіків ген *FMR-1* з більше ніж 200 повторів завжди асоційований з цим синдромом. Приблизно у третини жінок, що мають таку мутацію однієї з двох X-хромосом, також відзначається затримка розумового розвитку. Щоб уникнути народження дітей з подібним дефектом, у разі потреби вагітним жінкам проводиться хромосомний аналіз. Він здійснюється або шляхом амніоцентезу, або за допомогою дослідження ворсинок хоріона.

Інактивований ген *FMR-1* викликає затримку розумового розвитку. Вважають, що протеїн FMR-1 допомагає формувати зв'язки між нейронами, які лежать в основі навчання і пам'яті. Дослідження ДНК допомагає виявити носіїв і осіб з клінічними проявами, що дозволяє здійснювати генетичне консультування та пренатальну діагностику. До частих функціональних генетичних вад зараховують тугоухість, яка може виникати в результаті дефекту в одному із 70 різних генів [20].

Ген конексин 26, ймовірно, відповідальний за велику частину вродженої сенсоневральної тугоухості. Деякі форми вродженої тугоухості, ймовірно, виникають внаслідок антенатальної дії таких інфекційних агентів, як краснуха і цитомегаловірус. Генетичний скринінг і скринінг тугоухості при народженні, можливо, є найголовнішим дослідженням для прогнозу погіршення слуху, оскільки раннє розпізнавання та лікування можуть сприяти кардинальному поліпшенню слуху і, відповідно, розвитку мови та інтелектуальному розвитку в ранньому дитинстві.

До маловивчених вроджених станів належить синдром Харбояна, або вроджена ендотеліальна дистрофія рогівки та перцептивна глухота, що передається за автосомно-рецесивним типом. Виявлена асоціація цього синдрому з геном *SLC4A11*, який кодує транспортер, що, ймовірно, регулює внутрішньоклітинну концентрацію бору. При дослідженні мутацій *SLC4A11* виявлено алелізм CHED2 і значущість цих му-

тацій у розвитку перцептивної глухоти. Отримані результати не дають відповіді на питання про патогенез виникнення глухоти при виявлених мутаціях, у зв'язку з чим потрібна організація скринінгових генетичних досліджень у пацієнтів із вродженою ендотеліальною дистрофією рогівки [10].

Генетичні порушення викликають функціональні вроджені вади, в які залучені різні аспекти імунної системи. Найбільш серйозна форма — це тяжкий комбінований імунний дефіцит (SCID), який є різномірною групою порушень T- і B-імунних клітин, що характеризуються дефектом внаслідок мутацій у гені *RAG1*. Найчастіший вид SCID відомий під назвою X-зв'язаний SCID, що здебільшого розвивається у чоловіків, тому що вони мають тільки одну X-хромосому. Жінки мають дві X-хромосоми, і для виникнення синдрому у дівчинки обидва батьки мають бути носіями гена *RAG1*.

Другий вид синдрому SCID, автосомно-рецесивний, виникає в результаті відсутності ферменту аденозиндезамінази. Захворювання передається у спадок, коли обидва батьки роблять внесок у формування патологічного гена. Останніми роками розроблені нові види лікування SCID: внутрішньоматкова трансплантація стовбурових клітин, претрансплантаційна терапія, генна терапія. Генна терапія SCID успішно апробована, проте тривалість її ефекту невідома. Розроблені секвенс-специфічні ендонуклеази для генної інженерії. Ці ендонуклеази можна використовувати для корекції патологічних мутацій. Викликана цими ендонуклеазами цільова рекомбінація гена *RAG1* забезпечує ефективний захист від потенційних генотоксикантів. Проте їх застосування потребує абсолютної упевненості в безпеці [11]. Люди з SCID переносять небезпечні для життя інфекції, що починаються в дитинстві, і потребують повної фізичної ізоляції. Так було у разі Девіда Вертера, відомого світу як «хлопчик у пластиковому "пузирі"», у якому він прожив 12 років (рис. 9.2).



Рис. 9.2. Девід Вертер

9.2.4. Мультифакторна і полігенна спадковість

Значна частина патологічних станів і захворювань викликаються взаємодією успадкованих генів і навколишнього середовища. Вони відомі як мультифакторні стани. При взаємодії генів із навколишнім середовищем вплив навколишнього середовища в мультифакторних станах і хворобах зазвичай більший, ніж у моногенних захворюваннях. Антенатального впливу екологічних факторів неминує зазнає матково-плацентарний бар'єр (інфекції, наркотики, тютюн, алкоголь, індустриальні токсини, біохімічні та молекулярні речовини, що є наслідком патологічних станів матері, наприклад, цукровий діабет). Полігенні стани і хвороби виникають внаслідок кумулятивного ефекту функції сукупності генів. Вважають, що більшість вроджених вад є мультифакторними, наприклад, пілоростеноз, незарощення верхньої губи і піднебіння, клишоногість, дефекти нервової трубки. Коли виявляється ізольована вроджена вада, можна стверджувати про так звану мультифакторну порогову модель, яка припускає, що дефекти генів мультифакторних станів розповсюджують-

ся в межах популяції. Це означає, що майже кожна особа має окремі гени, залучені у формування цих станів, причому у більшості індивідумів генетичні зміни виражені недостатньо для того, щоб стати причиною захворювання. Індивідуми не зазнають ушкоджувальної зовнішньої дії, якщо їхня генетична схильність недостатня для того, щоб подолати поріг дії, тобто для розвитку патології необхідне досягнення порогового значення «дози» генів [12; 13].

Відсутність для мультифакторних станів елімінуючої дії природного відбору пояснює високу частоту цих хвороб у популяції. З позицій сучасних досягнень радіаційної та молекулярної генетики можна припустити, що при хронічній дії зовнішніх ушкоджувальних факторів у подальших поколіннях збільшуватиметься генетичний ризик, обумовлений, в першу чергу, підвищенням частоти мультифакторних станів [14]. Прикладом вродженої вади мультифакторної етіології можуть служити незарощення верхньої губи і піднебіння, спинномозкова грижа, пілоростеноз, аненцефалія і черепно-мозкова грижа, гідроцефалія, гіпоспадія, клишоногість. Незарощення верхньої губи і піднебіння — гетерогенна патологія, що виникає у дітей з різними аномаліями з частотою 1 на 1000 випадків. Відзначаються як ізольовані вроджені вади, так і вади, що є частиною більш складного синдрому.

Більшість випадків асоційовані з мультифакторною спадковістю. Ризик у родичів індивідумів може становити від 0,5 до 15 % залежно від тяжкості вади і ступеня спорідненості, найвищими є ризики для родичів першого ступеня спорідненості. Деякі випадки асоційовані з генетичними синдромами, які виникають внаслідок моногенних мутацій або хромосомних аномалій. Така мультифакторна вада, як клишоногість, виявляється в 1 з 10 000 новонароджених європеїдної раси. Ризик успадкування цієї вади становить від 2 до 20 % залежно від сімейного анамнезу. Клишоногість може мати генетичні причини — хромосомні або моногенні порушення, або екологічні проблеми, наприклад, викликані дефіцитом

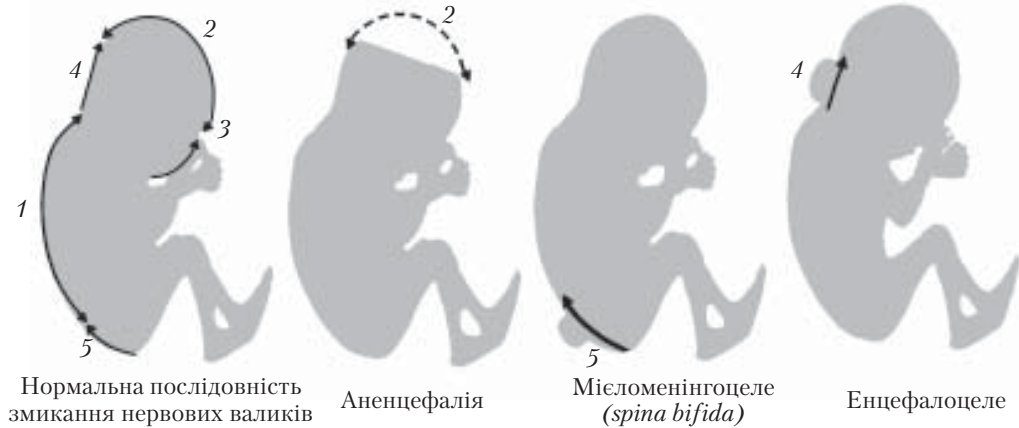


Рис. 9.3. Дефекти нервової трубки [60]:

1 — спинний відділ нервової трубки; 2 — ділянка від лоба до тімені;
3 — лицевий відділ; 4 — ділянка від потилиці до кінця шийного відділу; 5 — крижовий відділ

амніотичної рідини або структурними дефектами матки, що обмежує розвиток плода і його рухливість. Клишоногість може виникнути внаслідок автосомно-рецесивного і автосомно-домінантного успадкування, а може також зустрічатися як частина більш складного синдрому.

Інший клас мультифакторних порушень відомий як вроджені дефекти нервової трубки (рис. 9.3). Порушення закриття нервової трубки, яке зазвичай трапляється на четвертому тижні вагітності, призводить до цієї вади, здебільшого це *spina bifida* та/або аненцефалія. *Spina bifida* (відкритий хребетний стовп) є дефектом хребетного стовпа (спінальний дизрафізм, або рахішизм), що часто поєднується з грижею оболонки (менінгоцеле або мієломенінгоцеле), які вибухають через дефект кістки. Цей дефект також часто поєднується з дисплазією спинного мозку (мієлодисплазією), порушенням формування двох півкуль (голопрозенцефалія). *Spina bifida* виявляється в 1 на 1000 новонароджених, 75 % вагітностей із дефектом нервової трубки закінчуються спонтанним абортom або антенатальною загибеллю плода.

Оскільки *spina bifida* потенційно можна запобігти та вилікувати, клінічна значущість її ранньої діагностики висока. Близько 70 % ізольованих дефектів нерво-

вої трубки вважають результатом мультифакторного успадкування, проте у 2–16 % ізольованих дефектів наявні цитогенетичні порушення, у 24 % випадків, що асоціюються з іншими вродженими аномаліями, виявляють патологічний каріотип, 53 % спонтанних абортів з дефектами нервової трубки мають цитогенетичні аномалії. У 95 % жінок, у плодів яких встановлено дефект нервової трубки, немає сімейного анамнезу даної вади. Ідентифікація хромосомних аномалій або синдромальна діагностика у разі виявлення такого дефекту потребує ретельнішого генетичного скринінгу та визначення ризику виникнення вади в подальших вагітностях, тобто виділення мультифакторних, хромосомних і синдромних дефектів нервової трубки (табл. 9.4).

Периконцепційне застосування фолієвої кислоти для профілактики дефектів нервової трубки, що проводиться згідно з рекомендаціями ВООЗ, ефективно приблизно у 70 %. Решта 30 % належать до фолат-незалежних станів. Враховуючи гетерогенність етіології цієї вади, припускають, спираючись на дані експериментальних досліджень, існування інозитол-залежних дефектів нервової трубки (табл. 9.5).

У зв'язку з цим запропоновано скоригувати поліморфізм генів фолатного циклу з

дефектом нервової трубки (фолат-стійких та фолат-залежних) [15]. У дітей з голопрозенцефалією були описані мутації трьох генів: *SHH*, *SIX-3* і *ZIC-2* [42–44]. Мутація гена *HESX-1* асоційована з септооптичною дисплазією, що включає вади розвитку середнього мозку і гіпоплазію гіпофіза [45]. Дослідження показали, що виражений фенотип голопрозенцефалії (НРЕ) надзвичайно варіабельний навіть у сім'ях із гетерозиготними мутаціями, які викликають НРЕ. Результати досліджень свідчать, що ця фенотипна мінливість відображає комбінацію генетичної, епігенетичної й екологічної дії [16; 17]. Нині дефекти нервової трубки мають тенденцію до зниження (1 на 2000 пологів). Цей рівень різко знизився за минулі тридцять років.

Втім, в експериментальних моделях на мишах встановлено, що введення мікронутрієнтів із метиловими донорами протягом вагітності змінює рівні метилювання у нащадків, приводить до підвищення метилювання генів і розвитку алергічного фенотипу астми внаслідок реалізації епігенетичних механізмів [7; 10]. Тому слід вважати обґрунтованим припущення про те, що підвищене введення фолату та інших метилових донорів протягом вагітності може вплинути на імунний фенотип у дітей через епігенетичні механізми. Прийом фолієвої кислоти, можливо, також впливає на фенотип хвороби іншими механізмами, наприклад, фолат бере участь в обміні метіоніну, який є центральною ланкою клітинного метаболізму, проте результати стиму-

Таблиця 9.4

Генетичні зміни, пов'язані з ризиком формування дефекту нервової трубки [15]

Ген людини	Локус гена	Поліморфізм	Амінокислотні порушення	Зв'язок з ризиком дефекту
<i>MTHFR</i>	1p36.3	C677T A1298C C116T G1793A	A222V E429A P39P R594Q	+/- +/- +/- +/-
<i>MTHFD1</i>	14q24	G1958A	R653Q	+
<i>RFC-1</i>	21q22.3	G80A	R27H	+
<i>GCPH</i>	11p11.2	C1561T	H475Y	-
<i>MS</i>	1q43	A2756G	D919G	+/-
<i>MTRR</i>	5p15.2–15.3	A66G C524T A1049G	I22M S175L K350R	+/- - -
<i>TCII</i>	22q12.2	A67G G280A A701G C776G C1043T G1196A C1420T	I23V G94S E234R P259R S348F R399E L474F	- - - - - - -
<i>SHMT</i>	17p11.2	G742A	R239Q	-
<i>BHMT</i>	5q13.1–q13.2	844ins68bp	Передчасна зупинка кодону	+/-
<i>CBS</i>	21q22.3	28 bp repeat	Поліморфізм промотора	+/-
<i>TS</i>	18p11.32			

Таблиця 9.5

Результат експериментальних моделей на мишах, у яких дефектам нервової трубки запобігали прийомом екзогенних препаратів [15]

Експериментальна генетична модель	Дефект нервової трубки	Можливий механізм	Можна запобігти при прийомі фолієвої кислоти	Можна запобігти при прийомі інших препаратів
Аксіальні дефекти	<i>Spina bifida</i>	—	Ні	Метіонін
<i>Cart1⁺</i>	<i>Spina bifida</i>	Посилення апоптозу	Так	—
<i>Cited2⁺</i>	<i>Spina bifida</i>	Посилення апоптозу	Так	—
<i>Crooked tail</i>	<i>Spina bifida</i>	—	Так	—
<i>Curly tail</i>	<i>Spina bifida</i> , менингоцеле	Посилення проліферації задньої кишки	Ні	Інозитол та ретиноева кислота
<i>Ephrin-A5⁺</i>	Менингоцеле	Посилення адгезії	Ні	—
<i>Folbp1-1⁺⁸</i>	Менингоцеле	Дефіцит фолату	Так	—
<i>Spotch^{2H}</i> (<i>Pax3</i>)	<i>Spina bifida</i> , менингоцеле	Посилення апоптозу	Так	Тимідин

ляції цього циклу повністю не вивчені [18–20]. Синтетична фолієва кислота (PteGlu), найбільш часто використовувана форма фолату, відрізняється від натуральних фолатів і діє інакше, ніж природна. Абсорбція PteGlu, що вводиться, має кумулятивний ефект і може призводити до циркуляції неметаболізованої фолієвої кислоти, яка має певний вплив на імункомпетентні клітини [18].

9.2.5. Хромосомні захворювання

У нормі в людини є двадцять дві пари autosom і дві статеві хромосоми, XX або XY, отже, усього 46 хромосом. Хромосомні розлади трапляються приблизно у 0,5 % усіх живих новонароджених і виникають зазвичай внаслідок зміни кількості або структури хромосом. Вони є доповненням або вилученням єдиної autosom або статевої хромосоми в парі. При наявності одної додаткової копії хромосоми виникає трисомія, при відсутності однієї копії хромосоми — моносомія. Іноді дублюється або втрачається лише сегмент хромосоми. Хромосомні порушення діагностуються в ре-

зультаті аналізу каріотипу клітин крові, шкіри або іншої тканини. Каріотипування можна також виконувати у плода шляхом амніоцентезу.

Аntenатальні материнські аналізи клітин крові зазвичай використовуються для встановлення деяких трисомій, хоча точний діагноз потребує каріотипування ембріона. Хромосомні порушення можуть траплятися у дітей від матерів будь-якого віку, але частота цих порушень зростає зі збільшенням віку матері, особливо після 35 років. Хромосомні розлади можуть призводити як до фізичних, так і до функціональних вроджених вад, тяжкість яких варіює і залежить від місця uszkodження хромосоми [19]. Хромосомні дефекти включають синдром Клайнфельтера і синдром Тернера. Більшість синдромів виникають через додаткову хромосому 21. Трисомія 21 зазвичай трапляється як окрема подія в межах сім'ї. Захворювання діагностується на підставі характерних рис обличчя, слабкого м'язового тону, кардіальних і кишкових аномалій та слабкої або помірної затримки розумового розвитку. Додаткові

медичні ускладнення, можливо, також включають періодичні інфекції дихальних шляхів, проблеми зору, слуху і невеликий зріст.

Синдром Клайнфельтера — патологія статевієї хромосоми, яка трапляється у 1 з 600 чоловіків із каріотипом 47. Особи із синдромом Клайнфельтера мають додаткову Х-хромосому: ХХУ. Клінічні характеристики різні і включають деякі розумові та фізичні недоліки, гіпогонадізм і гінекомастію, що виникають в період статевої зрілості. Для лікування застосовують тестостерон, розпочинають терапію у пубертатному періоді. Як і при деяких інших порушеннях кількості статевих хромосом, дорослі з синдромом Клайнфельтера зазвичай страждають на безплідність.

Синдром Тернера — це порушення статевої хромосоми з каріотипом 45. У хворих на цей синдром одна Х-хромосома відсутня. Синдром Тернера трапляється в 1 із 4000 новонароджених. Більшість жінок із синдромом Тернера — низькорослі, у них не розвиваються яєчники, відсутній пубертатний розвиток. Ці хворі безплідні. Терапія жіночими статевими гормонами часто використовується для індукції розвитку грудних залоз і менструації. Більшість запліднень, що призводять до розвитку плода із цим станом, закінчуються мимовільним абортom, оскільки ембріон із синдромом Тернера надзвичайно нежиттєздатний в ранньому ембріональному періоді.

Хромосомні мікроперебудови частіше ідентифікують як причину вродженої патології. Найчастіше вони є наслідком рекомбінації між надзвичайно гомологічними (> 95 %) секвенсами, що називаються дупліконами, які займають відносно маленький регіон і приводять до делеції або дуплікації регіону [1–3]. Делеції або дуплікації змінюють нормальне дозування кількох сусідніх генів і відповідальні за синдроми із суміжними генами або моногенне порушення. Одне з цих порушень, синдром Вільямса — Бурена (Вільямса), викликається мікрodelеціями в регіоні 7q11.23. Це геномне порушення (частота 1 на 7500 пологів) характеризується типовими дизмор-

фічними особливостями, затримкою розумового та фізичного розвитку, мовлення, вродженими захворюваннями серця і підвищеною чутливістю до звуків. Індивідууми з синдромом Вільямса також демонструють гіперсоціабельність і характерний нейрокогнітивний профіль зі слабкими зорово-просторовими навиками, але відносно збереженими комунікативними здібностями.

Окремий клас спадкових порушень, які включають аберантну функцію клітинних органел — війок, відомий як циліопатії. Мутації у циліарних генах дають початок безлічі моногенних порушень [20]. Первинні війки широко представлені в різних клітинах тіла людини. До недавнього часу вважали, що вони є рудиментарними органелами, але дослідження останніх 5 років привели до розуміння їх ролі в розвитку ссавців. Ключем до оцінки взаємозв'язку між структурою, формуванням, функцією первинних війок і патологією, молекулярною генетикою та клітинною біологією було позиційне клонування генів, які кодувають структурні або функціональні компоненти первинних війок, в експериментальних моделях полікістозу нирки, біоінформативний аналіз й аналіз філогенезу відомих або передбачуваних циліарних генів, і характеристикою циліарного протеому [21–25]. Широкий спектр фенотипу, спостережуваного при циліопатіях, є ознакою значущості війок у розвитку багатьох типів тканини, зокрема нирок, мозку, печінки, очей і кісток.

Генетична різноманітність — загальна особливість циліопатій з генами мутантів, які дають початок різним порушенням, що утруднює їх ідентифікацію і характеристику. Як мінімум 12 генів асоційовано з синдромом Барде — Бідла — автосомно-рецесивним захворюванням, що характеризується пігментним ретинітом, постаксіальною полідактилією, ожирінням центрального типу, розумовою відсталістю, гіпогонадізмом і дисфункцією нирок (табл. 9.6).

Війчасті протеїни зазвичай існують у комплексах в різних клітинних розташуваннях, будучи посередником у таких про-

Таблиця 9.6

Новітні досягнення в молекулярній патології, клітинній біології та генетиці цистопатій.
Перелік цистопатій при спадкових захворюваннях [27]

Спадкове захворювання	Локус	Ген(и)	Розташування	Білок – продукт	Функції	Взаємодія
Полікістоз нирок autosомно-домінантний (PKD)						
Дорослий тип 1	PKD1	<i>PKD1</i>	16p13.3	PC1	Взаємодія клітина-клітина або клітина-матрикс. Взаємодія з PC-2 для утворення кальцій-залежного нессективного катіонного каналу	PC-2
Дорослий тип 2	PKD2	<i>PKD2</i>	4q22.1	PC2	Можливі білки каналів кальцій-залежного нессективного катіонного каналу. Взаємодіють з PC-1	PC-1
Полікістоз нирок autosомно-рецесивний (PKHD)						
Інфантильний тип	PKHD1	<i>PKHD1</i>	6p12.2	Фіброцистин, полідактин	Ймовірно, білок рецептора діє в збиральних протоках і впливає на диференціювання жовчі	
Нефронофтиз Фанконі (NPHP), синдром Сеньора — Локена (SLS)						
Ювенільний, тип 1	NPHP1, SLSN1, JBTS4	<i>NPHP1</i>	2q13	Нефроцистин	Білок-адаптор; асоціюється з сигнальними молекулами, що беруть участь у клітинній адгезії та організації актинового цитоскелета, і з β-тубуліном, основним компонентом первинної війки	Нефроцистин-4, p130Cas/BCAR1, PTK2B, TNS, β-тубулін
Інфантильний, тип 2	NPHP2	<i>INVS</i>	9q31.1	Інверсин	Основна функція війки і участь у клітинному циклі; можливі молекулярні перемикання між різними Wnt сигнальними каскадами	Нефроцистин, APC2
Підлітковий, тип 3	NPHP3, SLSN3	<i>NPHP3</i>	3q22.1	Нефроцистин-3	Нефроцистин і нефроцистин-4 можуть опосередковано впливати на загальні шляхи розвитку в первинній війці ниркових епітеліальних клітин	Нефроцистин
Ювенільний, тип 4	NPHP4, SLSN4, JBTS4	<i>NPHP4</i>	1p36	Нефроцистин-4, нефрорецистин	Можлива роль у передачі сигналу, клітинної адгезії та організації актинового цитоскелета і біогенезу; мутації в RPGRIP1 (пов'язані з вродженим амаврозом Лебера, тип 6) порушують взаємодії з нефроцистином-4	Нефроцистин, RPGRIP1

Продовження табл. 9.6

Спадкове захворювання	Локус	Ген(и)	Розташування	Блок – продукт	Функції	Взаємодія
Ювенільний, тип 4	SLSN5	<i>IQCB1</i>	3q21.1	<i>IQCB1</i> , нефроцистин-5	<i>IQCB1</i> і <i>RPGRIP1L</i> можуть брати участь у загальних механізмах зв'язування війки з фоторецепторами і з первинними війками ниркових епітеліальних клітин	<i>RPGR</i> , кальмодулін
<i>JBTS</i> і пов'язані розлади / <i>SLS</i> фенотипи	<i>NRHP6</i> , <i>SLSN6</i> , <i>JBTS5</i> , <i>LCA10</i> , <i>MKS4</i>	<i>CERP290</i> , <i>NRHP6</i>	12q21.3	<i>CERP290</i>	Локалізований на ядрах ниркових епітеліальних клітин, при з'єднанні війки з фоторецептором, центросомами і первинною війкою; модулює активність <i>ATF4</i> , фактора транскрипції, причетного до цАМФ-залежного утворення ниркових кіст	<i>ATF4</i>
Синдром Мак-Кьюсика — Кауфмана (MKS)						
	<i>MKS1</i>	<i>MKS1</i> , <i>FLJ20345</i>	17q22	<i>MKS1</i>	<i>MKS1</i> є членом цитоплазматичного апарату базального тілія протеом, містить B9 домен з невідомою функцією; локалізується в базальних тіліях і центросомах, але взаємодіє з мекеліном	Мекелін
	<i>MKS2</i>		11q13		Відповідальні гени не виявлені	
	<i>MKS3</i> , <i>JBTS6</i>	<i>MKS3</i> , <i>TMEM67</i>	8q22.1	Мекелін	Мекелін локалізується на поверхні клітин і первинних війок; передбачуваний трансмембранний рецептор з позаклітинним багатим на цистеїн доменом, який може мати схожість з рецепторами <i>Fizzled</i> -типу	<i>MKS1</i>
Мекеліноподібний цереброренодигітальний синдром	<i>MKS4</i> , <i>JBTS5</i>	<i>CERP290</i> , <i>NRHP6</i>	12q21.3	<i>CERP290</i>	Див. вище про <i>CERP290</i> ; мутації також викликають цереброренодигітальний синдром з фенотипом, який знаходиться між <i>MKS</i> і <i>JBTS</i>	
<i>CORS</i> , <i>JPTS</i> тип В	<i>MKS5</i> , <i>JBTS7</i> , <i>CORS3</i>	<i>RPGRIP1L</i> , <i>KIAA1005</i>	16q12.2	<i>RPGRIP1L</i>	Локалізується на базальних тіліях і центросомах з <i>CERP290</i> і взаємодіє з нефроцистином-4; у мишей <i>Ftm/Rpgr11</i> є необхідним для створення лівопівної асиметрії та структуризації нервової трубки і кінцівки; можливе посередництво пов'язаного з війками <i>Shh</i> сигналу	Нефроцистин-4
Синдром Жубера (JBTS), церебело-окуло-ренальний синдром (CORS)						
<i>CORS</i> тип 1	<i>JBTS1</i> , <i>CORS1</i>		9q34.3		Відповідальні гени не виявлені	

CORS тип 2	JBTS2, CORS2		11p12-q13.3		Відповідальні гени не виявлені	
	JBTS3	<i>ANH1</i>	6q23.3	АН1 білок гомолог гоміну	Функція невідома; експресія АН1 може внести свій вклад в розвиток деяких видів лейкої у людини, можуть бути пов'язані з чутливістю до шизофренії	
	JBTS4	<i>NRHP1</i>	2q13	Нефроцитин	Див. вище про NRHP1; делеція генів <i>NRHP1</i> є рідкісною причиною JBTS	
	JBTS5, MKS4	<i>SERP290, NRHP6</i>	12q21.3	SERP290	Див. вище про SERP290	
	JBTS6, MKS3	<i>MKS3, TMEM67</i>	8q22.1	Меккелін	Див. вище про MKS3	
	JBTS7, CORS3, MKS5	<i>RPGRIP1L, KIAA1005</i>	16q12.2	RPGRIP1L	Див. вище про RPGRIP1L	
LCA	LCA10	<i>SERP290, NRHP6</i>	12q21.3	SERP290	Див. вище про SERP290	
	LCA5	<i>LCA5, S6orf152</i>	6q14.1	Ліберцилін	Локалізується на мікротрубочках, центріолах і первинних війках, а також при зв'язку війок з фоторецепторами	Диней легких ланцюгів 1, 2, p150 і p50-диней субодиниці динактину, нуклеофосміну, нуклеоліну, 14-3-3η, HSP70
Синдром Барде — Бідля (BBS)						
Велика форма (тип 1)	BBS1	<i>BBS1, BBS2L2</i>	11q13.1	BBS1	Функція невідома; можлива роль у розвитку ока, кінцівок, серцевої та репродуктивної систем	
	BBS2	<i>BBS2</i>	16q13	BBS2	Функція невідома	

Закінчення табл. 9.6

Спадкове захворювання	Локус	Ген(и)	Розташування	Блок – продукт	Функції	Взаємодія
Велика форма (тип 1)	BBS3	<i>ARL6</i>	3q11.2	ARL	Член ARL підгрупи Ras суперсімейства; може регулювати різні клітинні функції, включаючи внутрішньоклітинний рух; у <i>C. elegans</i> ARL6 піддається джгутиковому транспорту в циліарну аксонему, залучаючи її до циліарного транспорту	
	BBS4	<i>BBS4</i>	15q24.1	BBS4	Містить повтори тетрапептиду; локалізується в центральних сателітах центросом і базального тіля первинної війки; адаптер P150 субудиниці механізму транспорту динейну; може бути необхідним для кріплення мікротрубочок і просування клітинного циклу	PCM1, p150 ^{glued} субудиниця динейну
	BBS5	<i>BBS5</i>	2q31.1	BBS5	Локалізується в базальних тілях; в <i>C. elegans</i> є необхідним для формування війок і джгутиків	
МККС	МККС, BBS6	<i>МККС</i>	20p12.2	МККС/BS6 (припущено) шаперонін	Шаперонін-подібний білок, що локалізується поблизу перичентріольного матеріалу центросоми, необхідного для цитокінезу; можлива роль у процесингу білка в кінцівках, у розвитку серцевої і репродуктивної систем	
	BBS8	<i>TTC8</i>	14q31.3	Тетратрикопептид повторюваний домен 8	Локалізується в центросомах і базальних тілях; колокалізується з γ -тубуліном і BBS4 в центросомах і взаємодіє з PCM1 білком, можливо, бере участь у циліогенезі; в <i>C. elegans</i> , bbs-8 потрібен для стабільності внутрішньоджгутикових транспортних комплексів	PCM1
	BBS9	<i>PTNIB1</i>	7p14.3	PTNIB1	Функція невідома; можуть бути залучені в механізм впливу парацитоподібного гормону в кістках; експресується у війкових клітинах у <i>C. elegans</i>	

	BBS10	<i>BBS10, C12orf58</i>	12q21.2	BBS10	Функція невідома; група II шаперонін-подібних білків
	BBS12	<i>BBS12, C4orf24</i>	4q27	BBS12	Функція невідома; група II шаперонін-подібних білків; розподіляє віддалені гомологи до BBS6 і BBS10 білків
Синдром Альстрома (ALMS)					
	ALMS1	<i>ALMS1</i>	2p13	ALMS1	Локалізується на центросомах і базальних тільцях; <i>in vivo</i> фенотип нок-аут <i>Alms1</i> у мишей представляє ний браком джугитиків сперматозоїдів і дефектним транспортом родопсину через приєднані війки клітин фоторецепторів; можлива роль у внутрішньоклітинному транспорті
Рото-лицево-пальцевий синдром (OFD синдром)					
OFD тип 1	OFD1	<i>OFD1, Cxorf5</i>	Xp22.2	OFD1	Локалізується в центросомах і базальних тільцях; дефектні первинні війки і лівоправа асиметрія у <i>Ofd1</i> нок-аутних мишей, структурування зі зміненим патерном нервової трубки і порушеннями експресії
Асфікційна торкальна дистрофія (ATD), синдром Жене					
	ATD1	<i>IFT80, WDR56</i>	3q26.1	IFT80	Локалізується в базальних тільцях та циліарній аксонемі; можлива роль у Shh сигналізації
					У <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , компоненти IFT комплексу В

Примітка. АНП — абельсон-хелпер інтегративний сайт 1; APC2 — субодиниця 2 анафазно-промотуючого комплексу; ATF4 — активуючий транскрипцію фактор 4; *C. elegans* — *Caenorhabditis elegans*; CEP290 — центросомальний протеїн 290 kDa; HSP — протеїни теплового шоку; IFT80 — інтрафлагеллярний транспорт гомолога протеїну 80 kDa; IQCB1 — IQ motif-вмісний протеїн B1; LCA — вроджений амавроз Лебера; MEGF-10 — можливий епідермальний фактор-подібний домен 10.

цесах, як утворення міжклітинних з'єднань, міжклітинні контакти і рух центросоми (рис. 9.4).

Транспортери *IFT* координують транспорт комплексів циліарного протеїну, таким чином сприяючи росту і розвитку війок. Мутації у генах *IFT* призводять до відсутності або укорочення війок, що тягне за собою розвиток синдрому Жене (асфікуюча торакальна дистрофія).

Можливо, циліопатії включають також синдром Івемарка (гепаторенальної панкреатичної дисплазії) і синдроми коротких ребер і полідактилії. Навіть для відомих циліопатій широка генетична гетерогенність більшості станів означає, що існують нові локуси і гени, які потребу-

ють подальшого дослідження та ідентифікації [26]. Більшість клітинних функцій залежать від правильної доставки протеїнів у внутрішньоклітинний простір. Мутації, які змінюють структуру протеїну і порушують його транспорт ("cargo" — вантаж), трапляються в багатьох генетичних порушеннях. Крім того, деякі порушення пов'язані з мутаціями у генах, що кодують транспортні компоненти везикул, відповідальних за нормальний транспорт протеїнів.

Ми розглядаємо клінічний фенотип і молекулярну патологію спадкових «протеїн-транспортних порушень», або вроджених захворювань транспорту. Подальше вивчення цієї групи порушень, що збіль-

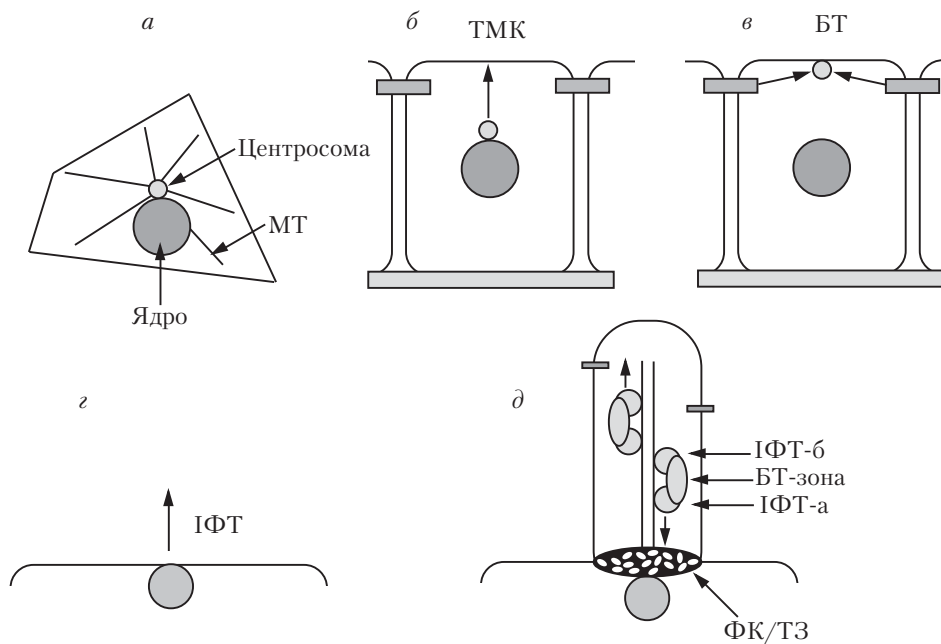


Рис. 9.4. Циліогенез та структура зрілої війки [21]: а — непolarизована епітеліальна клітина демонструє позиції ядра, центросоми та прості мікротрубочки (MT), сфокусовані на центросомі; б — поляризована постмітотична епітеліальна клітина, що формує частину клітини у певному напрямі за допомогою єднальних комплексів; в — центросома мігрує до апікальної поверхні клітини, де поєднується із трансмембранним протеїном, або комплексом (ТМК), щоб сформувати базальне тільце (БТ); г — протеїни-попередники війки, потім мігрують від єднальних комплексів до базального тільця, де ініціюють ріст війок шляхом інтрафлагелярного транспорту (ІФТ); д — інтактна зріла війка на фрагменті ІФТ демонструє локалізацію флагелярної комплекс-транзитної зони (ФК/ТЗ) і ретроградний антиретроградний шлях комплексу ІФТ-а і ІФТ-б, пов'язаних за допомогою базального тільця (БТ)

шується, забезпечить основу для розвитку нових діагностичних методів і стратегій лікування, визначить нові підходи в молекулярній патології загальних мультифакторних хвороб, пов'язаних із порушеннями механізмів транспорту. Відомо, що генетичні мутації, пов'язані з транспортом білка, викликають місфолдинг (процес спонтанного згортання поліпептидного ланцюга) й агрегацію протеїну-мутанта. Такі агрегати знайдені в ендоплазматичному ретикулумі. Патологічні процеси модифікації протеїну, можливо, також викликають генералізовану внутрішньоклітинну дислокалізацію протеїну при спадкових хворобах, таких як вроджені порушення глікозилювання і муколіпідоз.

Кількість відомих спадкових порушень транспорту істотно зростає. Незважаючи на те, що фенотип їх значно варіює, найбільш частими особливостями є гіпопигментація, порушення клітинної імунної відповіді та неврологічні розлади. Важливість апікального та базолатерального транспорту, що лежить в основі цих порушень, полягає в дії на поляризовані клітини, наприклад ренальні тубулярні клітини, гепатоцити та клітини внутрішнього вуха. Важливість цього процесу в фізіології людини відображає відкриття молекулярного дефекту, який лежить в основі комбінованого дефіциту факторів згортання крові V і VIII, автосомно-рецесивного тромбофілічного стану, який характеризується зменшеними рівнями циркуляції обох протеїнів [27]. Хворі з цим станом мають мутації або в ERGIC-53, який є головним компонентом ERGIC (також відомий як маноза-зв'язувальний лектин 1 (LMAN1) або дефіцит гена фактора коагуляції 2 (MCFD2)). Цитозольний протеїн MCFD2 вибірково залучає фактори згортання крові V і VIII і формує комплекс з мембраноасоційованим ERGIC-53, для транспортування факторів згортання крові. Хоча вроджені захворювання транспорту клінічно різноманітні та представлені в багатьох клінічних спеціальностях, ідентифікація загальних патогенетичних механізмів цих захворювань і відкриття дієвих терапевтичних засобів створило б основу для роз-

витку нового напрямку — «медицини транспорту білка» з метою діагностики та ведення цієї недуги [27; 28].

9.2.6. Вплив тератогенів

Тератоген — це будь-який засіб, який може спричинити вроджену ваду у тому разі, якщо плід підданий цій дії. Тератогенами є зазвичай фармацевтичні або інфекційні засоби, як, наприклад, бактерії або віруси, які можуть впливати на плід у перші декілька тижнів після зачаття. В ідеалі, жінка повинна уникати усіх лікувальних впливів протягом вагітності. Тератогени можуть впливати протягом дуже короткої стадії органогенезу. Уточнення тимчасового проміжку дії становить певні труднощі, що знижує можливість визначення ушкоджувального агента). Зв'язок вади з ушкоджувальним фактором також може бути ослаблений етіологічною гетерогенністю. Навіть добре вивчені вади можуть мати кілька можливих причин, а ізольований тератоген може бути виділений тільки для деяких із них. Зважаючи на невизначеність етіології, враховують, що існують специфічні фактори навколишнього середовища, які беруть участь у формуванні більшості вроджених вад, можливо, в результаті взаємодії один з одним.

Щоб належним чином оцінити потенційну небезпеку тератогена, необхідна інформація про його ефект на ембріональний розвиток, можливість проходження через плаценту, дозування та розрахунок часу дії тератогена на ембріон [29]. Десятки тисяч жінок у 1950-х — початку 1960-х років для лікування нудоти під час вагітності приймали талідомід, до того як його потужні тератогенні ефекти були визнані. Навіть єдина доза викликала тяжкі вроджені вади, зокрема амелію (відсутність кінцівок), фокомелію (короткі кінцівки), неповний або відсутній ріст кісток, порушення розвитку органів зору та слуху, вроджені вади серця тощо. Інший потужний тератоген — ізотреноїн, який продавався під торговою маркою Accutane, його використовували для лікування вугрової висипки. Антена-

тальна дія цього препарату призводить до розвитку серйозних дефектів центральної нервової системи, наприклад гідроцефалії, мікроцефалії та затримки розумового розвитку, незарощення верхньої губи й аномалій серцево-судинної системи, зору, інших систем [30–34]. Для жінок, які приймали цю речовину, рекомендується уникати вагітності як мінімум протягом одного місяця після того, як вони припинили її застосовувати. Подібно до медикаментів, деякі хімічні речовини, наприклад, алкоголь і кокаїн, можуть бути тератогенними засобами. Фетальний алкогольний синдром і фетальні алкогольні ефекти є найбільш частими, цілком відворотними порушеннями, викликаними застосуванням алкоголю протягом вагітності.

Фетальний алкогольний синдром — одна з лідируючих причин розумових і фізичних розладів у дітей (рис. 9.5).

Дія алкоголю на ембріон супроводжується розвитком характерних рис обличчя (згладжений губний жолобок, тонка верхня губа, вузькі очі), уповільненням зросту, розладами центральної нервової системи,



Рис. 9.5. Фетальний алкогольний синдром

недостатнім розумовим і фізичним розвитком та динамічними проблемами [35–36]. Вважають, що ніяка кількість алкоголю не є безпечною під час вагітності, проте деяким його ефектам можна запобігти за умови припинення прийому протягом першого триместру або після нього. Відомо, що використання кокаїну й інших наркотичних препаратів під час вагітності збільшує ризик мимовільних абортів і передчасних пологів. Були зареєстровані такі розлади у поведінці підданих внутрішньоутробному впливу новонароджених, як, наприклад, дратівливість, нерегулярний сон, м'язова ригідність. Деякі вроджені вади, що асоціюються із застосуванням цього лікарського засобу, проявляються сечостатеви-ми відхиленнями, дефектами кінцівок, кишок, черепа.

До інфекційних тератогенних агентів належать токсоплазмоз, сифіліс, краснуха [37–39]. У кожному з цих випадків, мати піддається інфекційному впливу з подальшою можливою передачею його до плода. Від 20 до 30 % новонароджених із вродженою інфекцією мають вроджені вади, зокрема мікроцефалію, та інші тяжкі ураження нервової системи. Лікування матері антибіотиками протягом вагітності безпечно для плода і значно знижує імовірність ембріональної інфекції. Синдром вродженої краснухи виникає в результаті дії на вагітну жінку вірусу краснухи і може призводити до тяжких вад розвитку, зокрема порушень серцевої діяльності, сліпоті, глухоті і затримки розумового розвитку [40–43].

Новий штам вірусу грипу (H1N1), швидко розповсюдився від початкового спалаху в Мексиці та Південних Сполучених Штатах до Канади і багатьох країн Європи і Азії. Тому ВООЗ рекомендувала підвищити рівень настороженості щодо пандемії грипу в квітні 2009 р. [44]. Оскільки серед заражених новим штамом багато молоді, оцінка впливу на вагітних і годувальниць становить особливу проблему. Мало відомо про те, чи передаються віруси грипу плоду через плаценту і чи виділяється він з молоком матері, хоча вважається, що цей клас вірусів не є тератогенним для людини [45].

Припущення про непрямі тератогенні ефекти материнського грипу протягом вагітності внаслідок високої гарячки ґрунтуються на 1 дослідженні дизайну «випадок-контроль», також відомі ефекти гіпертермії, асоційовані зі збільшенням рівня дефектів нервової трубки [46]. Згідно з Американським Центром контролю хвороб і профілактики, новий H1N1 вірус грипу чутливий до озельтамівіру і занамівіру, що належать до інгібіторів нейрамінідази, які діють на ранній фазі інфекції. Проте цей штам стійкий до адамантану, наприклад амантадину і римантадину. Сьогодні озельтамівір або занамівір рекомендують для антивірусного лікування і екстреної хіміо-профілактики проти нового грипу H1N1 для людей групи високого ризику, зокрема для вагітних жінок [46].

Нині групи високого ризику ускладнень нового грипу H1N1 ті ж, що і для сезонного грипу. Ці групи включають, зокрема, вагітних жінок і дітей у віці до 5 років або менше. Переваги грудного вигодовування для немовлят є беззаперечними, тому продовження вигодовування грудьми рекомендоване навіть якщо матір отримує лікування від нової H1N1 інфекції грипу. Три вагітних жінки були випадково піддані дії занамівіру протягом клінічних випробувань. Серед цих жінок одна вагітність перервалася передчасно, одну було перервано за медичними показаннями, а одна жінка народила здорову дитину. Японський інститут медикаментозної інформації має дані про вагітну жінку, яка приймала занамівір на 4-му тижні гестації і народила здорову дитину. Вагітні жінки, особливо на пізніх стадіях вагітності, входять до групи високого ризику ускладнень від грипу, зокрема нового грипу H1N1.

Дослідження *ex vivo* на моделі людської плаценти показують, що озельтамівір екстенсивно метаболізується плацентою. Трансплацентарна передача метаболіту є неповною з мінімальним нагромадженням на ембріональній стороні. У маркетингових контрольованих дослідженнях встановлено 61 вагітну жінку, які приймали озельтамівір з невідомим часом дії, за даними

виробника препарату. Серед цих вагітностей було 10 абортів, зокрема 6 терапевтичних, і 1 випадок трисомії за 21-ю хромосомою й аненцефалії. Отримані дані узгоджуються з даними Японського тератогенного інформаційного центру (Japanese teratogen information services (Toranomon Hospital, 21 and Japan Drug Information Institute in Pregnancy, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan)), який проспективно досліджував 90 вагітних жінок, що приймали терапевтичні дози озельтамівіру (75 мг двічі день до 5 днів) протягом першого триместру. Серед 90 випадків було зареєстровано 1 (1,1 %) каліцтво, що знаходиться в межах частоти каліцтва у загальній популяції (1–3 %).

Нейротоксичність і репродуктивна токсичність є важливими сферами оцінки ризику, оскільки нервова та репродуктивна системи надзвичайно чутливі до дії ксенобіотиків. Багато речовин було ідентифіковано як токсичні для цих систем людини. Чимало пестицидів умисно призначені для ушкодження репродуктивної та неврологічної функцій організмів-мішеней, наприклад комах, шляхом порушення гормональної біохімії та нейротрансмісії. Визначити речовини, потенційно токсичні для цих систем, важко з таких взаємозв'язаних причин:

1. Це одні з найбільш складних біологічних систем людини, причому визнано, що моделі репродуктивних і неврологічних функцій з використанням тварин неадекватно відтворюють такі події, як розвиток зародка і плода.

2. Відсутні прості тести для визначення потенційних репродуктивних або неврологічних токсикантів.

3. Ці системи складаються з різних видів клітин і органів, тому за допомогою єдиного набору механізмів токсичності не можна пояснити залежність доза-відповідь або передбачити залежність структура-активність.

Крім того, відомо, що нервова та репродуктивна системи з роками змінюються, а у критичні періоди внаслідок зовнішнього впливу можуть виникати тяжчі порушен-

ня, ніж в інший час. За минуле сторіччя виконано чимало досліджень, заснованих на стандартних генетичних епідеміологічних методах, які можна зарахувати до певної категорії досліджень: сімейних, подвійних, адаптивних, а також досліджень високого ризику. Це, наприклад, «класична» психіатрична генетика, яка дозволила зрозуміти, що більшість станів, які лікують у психіатрії, виявляються спадковими. Шизофренія, біполярні розлади, депресія, аутизм та інші загальні психіатричні стани успадковуються і частіше виникають серед близьких родичів. Проте генетика цих станів не є простою, або менделівською, за природою. Попри те, що окремі гени були ідентифіковані для певних станів (наприклад, синдром ламкої X-хромосоми і синдром Леша — Найхана), серйозніші порушення вважають генетично комплексними за участі дії зовнішніх факторів, що взаємодіють з багатьма генами малого ефекту (збільшення ризику приблизно від 10 до 40 %). Було важко однозначно ідентифікувати ці гени і зрозуміти, як вони взаємодіють один з одним і з негенетичними впливами, наприклад пологовою травмою, синдромом жорстокого ставлення до дитини, вірусними інфекціями та стресовими життєвими подіями. Вивчення геном-зчеплених асоціацій дозволяє досліджувати кожний ген у геномі одночасно. Ці методи, разом з іншими могутнішими експериментальними стратегіями дослідження генів-кандидатів, за допомогою біологічних маркерів або ендотипування, пошуку рідкісних варіантів і маленьких ділянок хромосомних дуплікацій та делецій, а також вивчення змін експресії генів залучені в процес перевизначення генетичної карти для психіатрії. Лікування психіатричних порушень протягом вагітності доречно, якщо ризик хвороби матері перевищує потенційні ризики ембріонального тератогенного ефекту. Це забезпечує адекватну перспективу співвідношення ризиків і переваг для матері і дитини. Зосередження винятково на ризику лікування нехтує станом здоров'я матері під час вагітності [47].

Прикладами дій генетичних асоціацій і пошуку релевантних маркерів можуть слу-

жити наведені нижче дані. Проводяться активні дослідження впливу ефіру фталієвої кислоти на репродуктивну функцію. Фталати належать до хімічних речовин, використовуваних для пом'якшення пластмас і надання їм потрібної форми (наприклад, при виготовленні пластикових пляшок). Потрапляючи в організм людини, вони можуть впливати на функцію ендокринної системи і регуляцію всіх основних функцій організму — репродуктивної функції, дихання, мислення тощо. Порушення цих процесів може призвести до перинатальної патології або ракових захворювань. Встановлено, що два гени, *CYP19* і *PPAR α* , експресовані плацентарним трофобластом, які є найбільш значущими для плацентарної функції, руйнуються виділенням фталату в інших типах клітин. Вимірювання mRNA цих генів у плацентарній тканині кількісним методом ПЛР (qPCR) є потенційним біомаркером для використання в епідеміологічних дослідженнях. З допомогою цього плацентарного біомаркера транскрипції в епідеміологічних дослідженнях можна вивчити широкий діапазон гіпотез, що нині мають відношення до екологічних ризиків [48–49].

Діоксин і діоксиноподібні контамінанти, поліхлоровані дибензо-р-діоксини (PCDDs) і дибензофурані (PCDFs), є імунотоксикантами для людини і тварин [1–7]. Пригнічення гуморальної та клітинної імунної системи — один із найтяжчих кінцевих наслідків після передпологового впливу на тварин надзвичайно отруйної діоксиноподібної суміші (2, 3, 7, 8-тетрахлородибензо-р-діоксин, TCDD) [50; 51]. У дітей з Тайваню, які були випадково піддані надмірному впливу діоксиноподібних речовин, інших речовин без діоксиноподібних властивостей, діоксину, поліхлорованих біфінілів (PCBs) і поліхлорованих дибензофуранів (PCDFs), в антенатальному періоді, зареєстровано збільшення захворюваності на бронхіт, кількості інфекцій середнього вуха відносно середньопопуляційного рівня [52; 53]. Збільшення пренатальної дії PCB було асоційоване зі зниженням розміру тимуса у новонароджених у місцевостях із високим екологічним забруднен-

ням як недіоксинодібних, так і діоксинопо-дібних речовин, а також PCBs в Східній Словаччині [14]. Крім того, виявлено, що дія PCB у молодому віці позитивно асоціюється з гострим отитом і позитивно корелює із захворюваністю на астму або алергію в подальшому [54–56].

Дослідження ембріональних mRNA транскриптів у цільній крові, а особливо у плазмі крові вагітних жінок, напевне, може бути масовим неінвазивним методом пренатальної діагностики. Динамічна природа mRNA транскриптів, можливо, забезпечує цінну інформацію щодо ембріональної експресії гена та стану ембріонального і материнського здоров'я протягом вагітності. Попередні обмеження досліджень, пов'язані з ототожненням ембріональної ДНК у материнській плазмі, зокрема залежністю від чоловічої статі або унікального батьківського поліморфізму, теоретично виключаються в даному разі застосуванням mRNA-транскриптів. Плацентарні гени легше виявити в материнській плазмі, ніж у цільній крові, що засноване на порівнянні зразків однієї і тієї ж вагітної жінки. Аналіз транскрипції цільної крові матері ідентифікує унікальний набір біологічно різноманітних ембріональних генів, не ідентифікованих раніше, який, можливо, відрізняється від порівнювального плазматичного аналізу. Ідентифіковані транскрипти можуть служити базою для порівняння плодів із різними патологічними станами, вони матимуть клінічне застосування в антенатальній діагностиці, перинатології та неонатології [57].

9.2.7. Материнська патологія

Вроджені вади можуть також виявитися результатом дії патологічних станів матері. Найчастішим є цукровий діабет. Матері, що страждають на цукровий діабет, мають у 2–3 рази більший ризик розвитку вад у дітей, ніж в решті популяції, якщо стан хвороби не контролюється. При цьому адекватне регулювання рівня глюкози корелює зі зниженням ризику вроджених дефектів. Вади, що асоціюються з цукровим діабетом, належать до кардіоваскуляр-

них, краніофасціальних, сечостатеви-х, гастроінтестинальних і неврологічних аномалій. Ризик розвитку цукрового діабету у дитини, народженої від матері з цукровим діабетом, становить 1–3 %. Іншим станом матері, який призводить до появи вроджених вад, є фенілкетонурія. Це автосомно-рецесивне захворювання, при якому порушено формування ензиму фенілаланін-гідроксилази. У нормі цей ензим перетворює фенілаланін на тирозин. В результаті підвищення рівня фенілаланіну розвиваються затримка розумового розвитку, серцева патологія, судоми, блювання і гіперактивність. Інші характеристики, пов'язані з фенілкетонурією, — світле волосся, блакитні очі. Захворювання добре піддається корекції шляхом зміни дієти. У жінок, що дотримуються дієти, народжуються здорові діти.

Ідентифікація протеомних біомаркерів ембріональних розладів в плазмі крові матері, амніотичній рідині та репродуктивних рідинах істотно просунулася за останні 5 років. Це пояснюється, переважно, прогресом різних технологій, пов'язаних з методами мас-спектрометрії. Ці методи високочутливі, потребують тільки незначної кількості рідини біологічного походження, і це дає надію на те, що вони стануть підставою для розвитку ефективних неінвазивних методів пренатальної діагностики. Сьогодні вже з'явилися протеомні маркери діагностики ембріональної анеупloidії, передчасних пологів, преєклампсії, інтраамніональної інфекції та дистрес-синдрому плода. Необхідне подальше вивчення цих маркерів для того, щоб протеомні підходи стали стандартом охорони здоров'я, що асоціюється зі здоров'ям матері і дитини [49].

Тандемна мас-спектрометрія набуває все ширшого застосування в неонатологічному скринінгу вроджених порушень метаболізму. З допомогою техніки аналізу висушених зразків крові, що ґрунтується на використанні чутливої, специфічної, достовірної методики, можна визначити широкий спектр амінокислотних, ліпідних та інших порушень — загалом 23 метаболічні розлади. Необхідність у масових інформа- тивних методиках зростає, тому сьогодні

тандемна мас-спектрометрія широко використовується у багатьох пілотних дослідженнях [50–53].

Дж. М. Г. Вільсон і Г. Юнгер у 1960 р. запропонували критерії для оцінки доцільності пренатального скринінгу вродженої патології. Ось ці критерії:

1. Стан повинен бути серйозною медичною проблемою.

2. Походження стану має бути добре вивчене.

3. Повинна існувати рання стадія, що піддається виявленню.

4. Потрібно віддавати перевагу лікуванню на ранній стадії, а не на пізніших стадіях.

5. Відповідне дослідження слід проводити для діагностики на ранній стадії.

6. Дослідження має бути затверджене Міністерством охорони здоров'я.

7. Інтервали для повторного випробування визначаються Міністерством охорони здоров'я.

Для оцінки доцільності пренатального скринінгу вродженої патології важливе адекватне забезпечення системи охорони здоров'я, необхідне для додаткового клінічного робочого навантаження, що виникає в результаті проведення скринінгу. Ризики, як фізичний, так і психологічний, мають бути меншими, ніж витрати [49]. Ці критерії були запропоновані задовго до появи сучасних технологічних можливостей для скринінгу. Деякі аспекти цих критеріїв, наприклад тяжкість захворювання, досить суб'єктивні.

Проте у сучасних умовах не використовують зовсім ніяких міжнародних стандартних критеріїв у програмах пренатального скринінгу. Оскільки за минулі десятиліття був досягнутий значний прогрес у застосуванні пренатального скринінгу, є необхідність створити послідовну, сучасну та високоякісну національну програму пренатального скринінгу. Завдяки прогресу в біохімічній і молекулярній генетиці, стає технічно можливим розширити перелік захворювань у списку для пренатальної діагностики. Сьогодні йдеться про розширення переліку захворювань на державному рівні у п'ятдесяти країнах Європи та

інших розвинених державах [54]. Існуючі труднощі, зокрема економічного характеру, можна подолати за рахунок розділення на галузі скринінгу та лабораторії, які діагностуватимуть певні групи захворювань, що сприятиме якості та поліпшуватиме послідовний збір даних. Виконання повноцінного пренатального скринінгу та скринінгу новонароджених, насамкінець, є дійсно доказовим підходом, який сприятиме формуванню інфраструктури, співпраці медичних кадрів, адекватній консолідації досліджень та інформованості суспільства.

9.3. Генетичні фактори репродуктивних втрат

Причини репродуктивних втрат надзвичайно різноманітні та не завжди чітко окреслені. Розвиток сучасних методів дослідження дозволив істотно розширити уявлення про спадкову природу загибелі ембріона та переривання вагітності. Успіхи молекулярної генетики, досягнуті останніми роками, зробили можливим вивчення генної природи і молекулярних механізмів мультифакторної патології, до якої належить передчасне переривання вагітності. Приблизно 10 із 15 % встановлених вагітностей закінчуються спонтанним абортom. Вважають, що у статистику не входить велика кількість дуже ранніх і субклінічно перебігаючих викиднів. Якщо враховувати дуже ранні приховані втрати, то загальна кількість становитиме одну третину або більше усіх зачатъ. Існують, поза сумнівом, додаткові преємбріонічні втрати, але нині вони не можуть бути виявлені доступними скринінговими методами. Багато дослідників розглядають такі втрати як прояв природного відбору, пов'язаного з високою частотою аномально-го каріотипу ембріона (близько 60 %).

Звична втрата вагітності (бездітний шлюб) спостерігається у 3–5 % подружніх пар. При звичній втраті вагітності частота аномального каріотипу ембріона набагато нижча, ніж при спорадичному невиношуванні (мимовільне переривання у терміні

від зачаття до 37 тиж.). У світовій практиці прийнято розрізняти ранні втрати вагітності (від зачаття до 22 тиж.) і передчасні пологи (від 22 до 37 тиж.). Передчасні пологи поділяють на 3 групи з урахуванням термінів вагітності: від 22 до 27 тиж. — дуже ранні передчасні пологи, від 28 до 33 тиж. — ранні передчасні пологи і в терміни вагітності 34–37 тиж. — передчасні пологи. Такий розподіл цілком виправданий, оскільки причини переривання, тактика лікування та результати вагітності для новонародженого різні у ці періоди вагітності.

За результатами досліджень, у 75 % жінок з безплідністю або невдачами допоміжних репродуктивних технологій внаслідок преємбріонічних втрат виявлена генетична тромбофілія і в 31 % антифосфоліпідний синдром. З-поміж них мультигенна тромбофілія — у 57 % випадків (46,7 % із них у поєднанні з гіпофібринолізом) і поєднані форми — у 20 %. Найбільш поширеним дефектом у цієї категорії жінок виявилися поліморфізми за гіпофібринолізом (33,7 із 75 % генетично опосередкованої тромбофілії) і антифосфоліпідним синдромом (31 %) та їх поєднанням (20,7 %). Звертає на себе увагу високий відсоток ендемічного гіпофібринолізу та циркуляції антифосфоліпідних антитіл як причини безплідності і невдач допоміжних репродуктивних технологій.

У нашій країні прийнято розрізняти ранні та пізні викидні, переривання вагітності до 22 тиж. і передчасні пологи у 22–37 тиж. Ранні втрати вагітності до 12 тиж. становлять майже 85 % усіх втрат, і що менше термін вагітності, то частіше ембріон спочатку гине, а потім з'являються симптоми переривання. Причини переривання вагітності надзвичайно різноманітні, нерідко поєднуються кілька етіологічних факторів. Проте можна виділити основні проблеми переривання вагітності у першому триместрі. Найбільш важливими є стан самого ембріона та хромосомні аномалії, що виникають в період запліднення, або успадковані від батьків. До хромосомних порушень ембріона можуть призводити гормональні захворювання, що є причиною порушень процесів дозрівання фолікула, процесів мейозу, мітозу в яйцеклітині та спер-

матозоїді. Не менш важливим є стан ендометрія, тобто характеристика патології, обумовленої багатьма причинами: гормональними, тромбофілічними, імунологічними порушеннями, наявністю хронічного ендометриту з персистенцією в ендометрії вірусів, мікроорганізмів, із високим рівнем прозапальних цитокінів й імунних клітин.

У зв'язку з цим виділяють шість великих груп причин звичної втрати вагітності, де на першому місці знаходяться генетичні порушення (успадковані від батьків або такі, що виникають *de novo*). При перериванні вагітності до 5–6 тиж. провідними причинами є особливості каріотипу батьків (транслокації та інверсії хромосом). Генетичні фактори у структурі причин звичного невиношування становлять 3–6 %. При ранніх втратах вагітності аномалії каріотипу батьків спостерігаються в 8,8 % випадків. Імовірність народження дитини з незбалансованими хромосомними аномаліями за наявності в каріотипі одного з батьків збалансованих хромосомних перебудов дорівнює 1–15 %. Залежно від характеру перебудов, розмірів залучених сегментів, статті носія, сімейного анамнезу дані будуть різнитися. За наявності у подружній парі патологічного каріотипу навіть у одного з батьків рекомендується проведення пренатальної діагностики під час вагітності (біопсія хоріона або амніоцентез, зважаючи на високий ризик хромосомних порушень у плоді).

Інвазія трофобласта — основоположний процес для успішного розвитку плаценти. З метою визначення регулювання інвазії трофобласта на молекулярному рівні проводять дослідження mRNA ворсин хоріона (з низьким потенціалом інвазивності) і екстраворсинчастого трофобласта (з високим потенціалом інвазивності) у першому триместрі вагітності, використовуючи мікрочипову технологію — аналіз 991 транскриптів, що належать до процесів інвазії та міграції. Встановлено експресію деяких генів, що беруть участь у процесах фізіологічної та патологічної клітинної інвазії, таких як дизінтегрин А, металопротеїназа-12, -19, -28 і спондин-2, вміст яких підвищений у зразках екстраворсинчастого трофобласта.

та. Були визначені деякі функціональні модулі, які асоціюються з інвазивним і неінвазивним фенотипом трофобласта. Одним із генів, що знижують пул інвазивної mRNA, є гемоксигеназа-1 (*HO-1*). Модуляція експресії *HO-1* у клітинах, що втратили здатність до інвазії, в експерименті призводить до підвищення міграції трофобласта і появи ранозагоювальних властивостей. Важливим виявилось також те, що підвищення експресії *HO-1* приводить до підвищення рівня клітинних гормонів і активації рецепторів проліферації пероксисом (peroxisome proliferator activated receptor, PPAR). Таким чином, профіль експресії генів ворсин хоріона і екстраворсинчастого трофобласта може використовуватися як новітній маркер регуляції клітинної інвазії для прогнозу різних акушерських ускладнень [54].

Останніми роками багато уваги приділяється ролі системи HLA в репродукції. Встановлений негативний внесок певних антигенів, носіями яких є чоловіки у подружніх парах з невиношуванням вагітності ранніх термінів. До них належать антигени HLA I класу — B35 ($p < 0,05$), II класу — алель 0501 за локусом DQA ($p < 0,05$). Виявлено, що переважна кількість анембріоній припадає на подружні пари, в яких чоловік має алелі 0201 за локусом DQA, і/або DQB (відзначається двократне збільшення цього алеля порівняно з даними популяцій). Виявлено, що несприятливими генотипами є 0501/0501 і 0102/0301 за локусом DQA і 0301/0301 за локусом DQB. Частота виявлення гомозигот за алелями 0301/0301 становить 0,138 порівняно з даними популяцій — 0,06 ($p < 0,05$).

Встановлено, що імунологічні причини ранніх втрат вагітності обумовлені декількома порушеннями, зокрема, високим рівнем прозапальних цитокінів, активованих NK-клітин, макрофагів у ендометрії, наявністю антитіл до фосфоліпідів. Високий рівень прозапальних цитокінів виявляє пряму ембріотоксичну дію на ембріон і призводить до гіпоплазії хоріона. У цих умовах зберегти вагітність не вдається, а якщо при нижчих рівнях цитокінів вагітність зберігається, то формується первин-

на плацентарна недостатність. Великі гранулярні лімфоцити ендометрія CD56⁺ становлять 80 % усієї популяції імунних клітин в ендометрії до моменту імплантації ембріона. Вони відіграють велику роль в інвазії трофобласта, змінюють імунну відповідь матері з розвитком толерантності до вагітності за рахунок виділення прогестероніндукованого блокуючого фактора і активації Th2 до продукції блокуючих антитіл; забезпечують вироблення факторів росту і прозапальних цитокінів, баланс яких необхідний для інвазії трофобласта і плацентації [22].

Враховуючи несприятливі результати передчасних пологів для дитини, необхідно приділити більшу увагу проблемі профілактики передчасних пологів на рівні всієї популяції вагітних жінок. Крім того, тривають спроби визначати маркери ранніх проявів внутрішньоутробної інфекції фібронектин IL-6 у слизі цервікального каналу, ФНП- α , IL-1 β у крові, дослідження молекулярних маркерів тромбофілії, таких як комплекси TAT, F1+2 фрагменти протромбіну. До групи генів схильності до невиношування вагітності зараховують гени системи біотрансформації ксенобіотиків — будь-яких чужорідних токсичних речовин, що надходять в організм. Ушкоджувальна дія ксенобіотиків може реалізовуватися як у ході гаметогенезу, так і при заплідненні, імплантації, плацентації та подальших стадіях ембріогенезу. Чутливість організму до дії ушкоджувальних агентів залежить від процесу детоксикації, який перебігає двома стадіями за участі складної ферментативної системи [1; 9]. Глутатіон-S-трансферази (GSTs) беруть участь у другій фазі процесу біотрансформації ксенобіотиків.

Усі метаболічні процеси інактивації токсичних речовин контролюються генотипом і залежать від його індивідуальних особливостей [1]. У літературі точаться дискусії про причетність генів метаболізму до невиношування вагітності [12; 14]. Порівняльний аналіз даних досліджень свідчить про значну варіабельність частоти між популяціями, з якою зустрічаються алелі генів системи детоксикації як у групі сімей

з обтяженим акушерсько-гінекологічним анамнезом, так і серед здорових осіб контрольної вибірки. Причиною подібної відмінності можуть виявитися як деякі особливості популяцій, так і, головним чином, різні критерії включення пацієнтів у дослідження при формуванні вибірок (термін і частота переривання вагітності, наявність або відсутність попередніх пологів та медичних абортів).

Враховуючи надзвичайну поліетіологічність передчасного переривання вагітності, ми вважаємо важливим для оцінки ролі поліморфізму генів метаболізму при даній патології спочатку сформувати максимально однорідну групу подружніх пар, головним чином, за критерієм відсутності передуючих невиношування позаматкової вагітності, пологів, медичних абортів, що може виявитися причиною мимовільного абортів, на підставі вивчення особливостей алельних варіантів генів *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *CYP1A1* у групі подружніх пар зі звичною втратою вагітності на ранніх термінах (починаючи з першої вагітності) і в групі здорових подружніх пар з нормальною репродукцією. Дані досліджень свідчать, що поява *CYP1A1*2A* алеля може стати фактором ризику ідіопатичного невиношування вагітності. Не можна, проте, не враховувати можливості того, що причиною може бути і асоціація з поліморфізмом, яка здебільшого трапляється, генів *ACE* і *MTHFR*, що дозволяє дослідникам запропонувати застосовувати подібну асоціацію як маркер клінічної діагностики ризику ранньої втрати вагітності.

Проведено дослідження швидкості метаболізму кофеїну в групах жінок із невиношуванням вагітності. Встановлено, що наявність у жінки алеля *CYP1A2*1A* приводить до дуже швидкого метаболізму кофеїну, а у носійок *CYP1A2*1F* алеля метаболізм кофеїну здійснюється значно повільніше. Відмінність цих двох алелів полягає у заміні одиничного нуклеотиду А = С у позиції 734 гена *CYP1A2*. Жінок із двома копіями швидкого типу алелей *CYP1A2*1A* вважають «швидкими метаболізаторами кофеїну», за наявності хоча б однієї копії алеля повільного типу

*CYP1A2*1F* метаболізм кофеїну сповільнюється. Кофеїн належить до хімічних речовин, що діють як стимулятор. Індивідууми, що споживають каву без урахування швидкості її метаболізму, належать до групи ризику серцево-судинних захворювань. Sata et al. (2010) проведено дослідження впливу кофеїну на перебіг вагітності та безплідність. Встановлено, що жінки зі сповільненим генотипом мають підвищений ризик звичного невиношування та зниження репродуктивної здатності при вживанні 100–299 мг (1–3 чашки) кави на день. У жінок зі швидким типом метаболізму негативних ефектів при такій же кількості кави не виявлено.

Тромбофілія, один із безперечних факторів ризику невиношування вагітності, є мультигенним порушенням, в якому значну роль відіграє ген *Apo E*, що бере активну участь у метаболізмі ліпідів під час вагітності. Встановлено, що індивідууми, які є носіями *E4* алеля гена *Apo E*, мають підвищений ризик тромбозу. Частота зустрічальності генотипу *Apo E4* у жінок із невиношуванням істотно підвищена, що дозволяє зарахувати поліморфізм *Apo E4* до тромбофілічних факторів ризику невиношування вагітності [5].

Одне з найбільш значущих інтеграційних масштабних досліджень кандидатних генних асоціацій було виконано на 1442 SNPs у 130 генах у жінок із передчасними пологами (< 36 тиж.) і в контрольній групі (> 37 тиж.) під керівництвом Ramkumar Menon [6]. За допомогою інструментів системної біології, а саме програми Using Ingenuity Pathway Analysis (IPA), були визначені провідні патофізіологічні механізми розвитку передчасних пологів шляхом генерації міжмолекулярних взаємодій встановлених генетичних карт. У результаті проведеного аналізу за програмою IPA складено комплекс найбільш значущих генетичних асоціацій, що призводять до виникнення передчасних пологів. Згодом для кожної генетичної асоціації IPA визначила комплекс потенційних інтерактивних біомаркерів (молекул-партнерів), які тісно пов'язані з варіантними генами і надають нові можливості для прогнозу передчасних

пологів. Перспективними і надійними є маркери пренатальної патології, зокрема передчасних пологів, отримані в результаті протеомного аналізу, мас-спектрометричного профілю сироватки крові і амніотичної рідини [7].

За допомогою методів системної біології, що включають аналіз геному, транскриптому, протеому і метаболому, ідентифіковані біомаркери, точність яких для передчасних пологів і перинатального інфікування сягає 90 %. Дослідження у цій галузі належать до перспективних, інформативних і достовірних, що надалі дозволяє чекати на їх позитивний вплив на клінічну ситуацію у перинатології.

Список літератури

1. *Економіка України: стратегія і політика довгострокового розвитку* / за ред. В. М. Гейця. — К. : Фенікс, 2003. — С. 229-230.
2. *Сидельникова В. М.* Невынашивание беременности — современный взгляд на проблему / В. М. Сидельникова // *Акушерство и гинекология*. — 2007. — № 5. — С. 24-27.
3. *Генетическая медицина* / В. Н. Запорожан, В. А. Кордюм, Ю. И. Бажора [и др.] ; под ред. В. Н. Запорожана. — Одесса : Одес. гос. мед. ун-т, 2008. — 432 с.
4. *Запорожан В. М.* Акушерство і гінекологія. У 2-х томах : підручник / В. М. Запорожан, М. Р. Цегельський, Н. М. Рожковська. — Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2005. — Т. 1. — 472 с. ; Т. 2. — 420 с.
5. *The Association of Apoprotein E Polymorphisms with Recurrent Pregnancy Loss* / C. Goodman, S. C. Goodman, J. Hur [et al.] // *American Journal of Reproductive Immunology*. — 2008. — Vol. 61, Issue 1. — P. 34-38.
6. *If Racial disparity in pathophysiologic pathways of preterm birth based on genetic variants* / M. Ramkumar, B. Pearce, D. R. Velez [et al.] // *Reproductive Biology and Endocrinology*. — 2009. — Vol. 7. — P. 62.
7. *Proteomic analysis of amniotic fluid to identify women with preterm labor and intra-amniotic inflammation/infection: the use of a novel computational method to analyze mass spectrometric profiling* / R. Romero, J. Espinoza, W. T. Rogers [et al.] // *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* — 2008. — Vol. 21. — P. 367-388.
8. *Воробцова И. Е.* Генетические и соматические эффекты действия радиации у человека и животных (сравнительные аспекты) / И. Е. Воробцова // *Генетические последствия чрезвычайных радиационных ситуаций : материалы междунар. конф., Москва, 10–13 июня 2002 г.* — М., 2002. — С. 30-31.
9. *Холл Э. Дж.* Радиация и жизнь / Э. Дж. Холл ; пер. с англ. ; под ред. Л. А. Ильина. — М., 1989. — 256 с.
10. *Borate transporter SLC4A11 mutations cause both Harboyan syndrome and non-syndromic corneal endothelial dystrophy* / J. Desir, G. Moya, O. Reish [et al.] // *Genetics*. — 2007. — Vol. 44. — P. 322-326.
11. *Efficient targeting of a SCID gene by an engineered single-chain homing endonuclease* / S. Grizot, J. Smith, F. Daboussi [et al.] // *Nucleic Acids Res.* — 2009. — Vol. 37, N 16. — P. 5405-5419.
12. *Линский И. В.* О соотношении генетических и средовых детерминант в развитии заболеваний наркологического профиля / И. В. Линский, Л. А. Атраментова, Г. Э. Матузок // *Український вісник психоневрології*. — 1998. — Т. 6, вип. 3. — С. 97-99.
13. *Confirmation of the multifactorial threshold model for congenital structural talipes equinovarus* / A. Czeizel, A. Bellyei, J. Kráncz [et al.] // *Journal of Medical Genetics*. — 1981. — Vol. 18. — P. 99-100.
14. *Вологодская И. А.* Склонность к мультифакториальной патологии у жителей города в зоне предприятия атомной промышленности (ПО «Маяк») / И. А. Вологодская, А. В. Курбанов, Е. С. Григорьева // *Генетические последствия чрезвычайных радиационных ситуаций : материалы*

международ. конф., Москва, 10–13 июня 2002 г. — М., 2002. — С. 29-30.

15. *Cavalli P.* Inositol and folate resistant neural tube defects / P. Cavalli, A. J. Copp // *Journal of Medical Genetics*. — 2002. — Vol. 39. — e5-e5.

16. *Cavalli P.* Inositol supplementation in pregnancies at risk of apparently folate-resistant NTDs / P. Cavalli, S. Tedoldi, B. Riboli // *BDRA*. — 2008. — Vol. 82, issue 7. — P. 540-542.

17. *Edison R.* The interplay of genetic and environmental factors in craniofacial morphogenesis: holoprosencephaly and the role of cholesterol / R. Edison, M. Muenke // *Congenit. Anom. (Kyoto)*. — 2003. — Vol. 43. — P. 1-21.

18. *Abnormal* sterol metabolism in holoprosencephaly: studies in cultured lymphoblasts / D. Haas, J. Morgenthaler, F. Lacbawan [et al.] // *Journal of Medical Genetics*. — 2007. — Vol. 44. — P. 298-305.

19. *Folic acid* supplements in pregnancy and early childhood respiratory health / S. E. Heberg, S. J. London, H. Stigum [et al.] // *Archives of Disease in Childhood*. — 2009. — Vol. 94. — P. 180-184.

20. *Duplications* in addition to terminal deletions are present in a proportion of ring chromosomes: clues to the mechanisms of formation / E. Rossi, M. Riegel, J. Messa [et al.] // *Journal of Medical Genetics*. — 2008. — Vol. 45. — P. 147-154.

21. *Либерман А. Н.* Обоснование нормативов облучения населения репродуктивного возраста / А. Н. Либерман, Н. К. Стрельникова, И. Г. Рандаренко // *Радиационная гигиена: сб. науч. трудов*. — СПб., 1992. — С. 100-106.

22. *Cellular* and subcellular localization of the ARPKD protein; fibrocystin is expressed on primary cilia / C. J. Ward, D. Yuan, T. V. Masyuk [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* — 2003. — Vol. 12. — P. 2703-2710.

23. *Cloning* of inv, a gene that controls left/right asymmetry and kidney development / T. Mochizuki, Y. Saijoh, K. Tsuchiya [et al.] // *Nature*. — 1998. — Vol. 395. — P. 177-181.

24. *Comparative* genomics identifies a flagellar and basal body proteome that includes the BBS5 human disease gene / J. B. Li, J. M. Gerdes, C. J. Haycraft [et al.] // *Cell*. — 2004. — Vol. 117. — P. 541-552.

25. *Gherman A.* The ciliary proteome database: an integrated community resource for the genetic and functional dissection of cilia / A. Gherman, E. Davis, N. Katsanis // *Nat. Genet.* — 2006. — Vol. 38. — P. 961-962.

26. *Hildebrandt F.* Nephronophthisis-associated ciliopathies / F. Hildebrandt, W. Zhou // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2007. — Vol. 18. — P. 1855-1871.

27. *Recent* advances in the molecular pathology, cell biology and genetics of ciliopathies / M. Adams, U. M. Smith, C. V. Logan, C. A. Johnson // *Journal of Medical Genetics*. — 2008. — Vol. 45. — P. 257-267.

28. *Gissen P.* Cargos and genes: insights into vesicular transport from inherited human disease / P. Gissen, E. R. Maher // *Journal of Medical Genetics*. — 2007. — Vol. 44. — P. 545-555.

29. *Лебедев И. Н.* Тканеспецифичный плацентарный мозаицизм по аутосомным трисомиям у спонтанных абортусов человека: механизмы формирования и фенотипические эффекты / И. Н. Лебедев, С. А. Назаренко // *Генетика*. — 2001. — Т. 37, № 11. — С. 1459-1474.

30. *Молекулярно-цитогенетическая* характеристика хромосомного дисбаланса в клетках спонтанных абортусов с низкой пролиферативной активностью in vitro / И. Н. Лебедев, Н. В. Островерхова, Т. В. Никитина [и др.] // *Генетика*. — 2003. — Т. 39, № 8. — С. 1112-1122.

31. *Лебедев И. Н.* Особенности фенотипической экспрессии аутосомных моносомий при патологии постимплантационного развития человека / И. Н. Лебедев, С. А. Назаренко // *Онтогенез*. — 2004. — Т. 35, № 1. — С. 53-60.

32. *Евдокимова В. Н.* Полиморфизм три-нуклеотидных CAG-повторов первого экзона гена рецептора андрогенов в популя-

ции г. Томска / В. Н. Евдокимова, Е. А. Путинцева, С. А. Назаренко // Генетика. — 2000. — Т. 36, № 6. — С. 859-862.

33. *Эффективность* цитогенетической и молекулярной диагностики синдрома ломкой X-хромосомы у умственно отсталых больных Западно-Сибирского региона России / Е. Н. Толмачева, Л. П. Назаренко, О. Ю. Корягина [и др.] // Медицинская генетика. — 2003. — Т. 2, № 5. — С. 212-217.

34. *Гено-фенотипические* корреляции у пациентов с клинической картиной синдрома Прадера — Вилли / Е. А. Саженова, И. Н. Лебедев, С. А. Назаренко [и др.] // Медицинская генетика. — 2006. — № 1. — С. 24-30.

35. *Назаренко С. А.* Эпигенетические модификации генома и болезни человека / С. А. Назаренко // Медицинская генетика. — 2004. — № 2. — С. 70-77.

36. *Детекция* анеуплоидии у спонтанных абортусов методом сравнительной геномной гибридизации / Н. В. Островерхова, С. А. Назаренко, И. Н. Лебедев [и др.] // Генетика. — 2002. — Т. 38, № 12. — С. 1435-1442.

37. *Назаренко С. А.* Сравнительный анализ частоты анеуплоидии в покоящихся и делящихся клетках человека при воздействии вредных внешнесредовых факторов / С. А. Назаренко, В. А. Тимошевский // Генетика. — 2005. — Т. 41, № 3. — С. 391-395.

38. *Тимошевский В. А.* Биологическая индикация мутагенных воздействий: анализ числовых хромосомных нарушений в интерфазных клетках человека : учеб. пособие / В. А. Тимошевский, И. Н. Лебедев, С. А. Назаренко ; под ред. акад. РАМН, проф. В. П. Пузырева. — Томск : Печатная мануфактура, 2006. — Вып. 7. — 40 с. — (Серия «Наследственность и здоровье»).

39. *Полногеномная* амплификация ДНК: современные достижения и перспективы использования в преимплантационной генетической диагностике / И. Н. Лебедев, А. Д. Черемных, С. А. Назаренко, А. В. Светлаков // Проблемы репродукции. — 2005. — Т. 5. — С. 60-67.

40. *Внеклеточные* нуклеиновые кислоты плода в крови матери: характеристика, происхождение, значение для пренатальной диагностики / А. Г. Токарева, И. Н. Лебедев, С. А. Назаренко, П. П. Лактионов // Медицинская генетика. — 2006. — Т. 5, № 8. — С. 11-19.

41. *Лебедев И. Н.* Эпигенетические аспекты безопасности вспомогательных репродуктивных технологий / И. Н. Лебедев, В. П. Пузырев // Генетика. — 2007. — Т. 43, № 9. — С. 1157-1171.

42. *Summary* of Mouse Models in which NTD are presentable by exogenous agents // American Journal of Medical Genetics. Part C: Seminars in Medical Genetics. — 2005. — Vol. 135, Issue 1. — P. 31-41.

43. *Статус* метилирования импринтированного гена SNRPN при ранней эмбриональной гибели у человека / А. А. Кашеварова, Е. А. Саженова, И. Н. Лебедев, С. А. Назаренко // Бюллетень СО РАМН. — 2006. — № 1. — С. 101-105.

44. *Ретроспективная* молекулярно-цитогенетическая характеристика тетраплоидии при ранней эмбриолетальности у человека / А. А. Кашеварова, Н. Н. Суханова, Е. Н. Толмачёва [и др.] // Цитология. — 2007. — Т. 49, № 4. — С. 322-328.

45. *Токарева А. Г.* Концентрация циркулирующей и связанной с клеточной поверхностью внеклеточной ДНК матери и плода в крови беременных женщин / А. Г. Токарева, И. Н. Лебедев, С. А. Назаренко // Медицинская генетика. — Т. 6, № 8. — С. 24-28.

46. *Chan M.* Influenza A (H1N1) [Электронный ресурс] / M. Chan. — Geneva (Switzerland) : World Health Organization, 2009. — Режим доступа: www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1_20090429/en/index.html.

47. *Maternal* influenza during pregnancy and risk of congenital abnormalities in offspring / N. Ács, F. Banhidy, F. Puho [et al.] // Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol. — 2005. — Vol. 73. — P. 989-996.

48. *Maternal* hyperthermia and the risk for neural tube defects in offspring: systematic

- review and meta-analysis / M. E. Moretti, B. Bar-Oz, S. Fried [et al.] // *Epidemiology*. — 2005. — Vol. 16. — P. 216-219.
49. *Psychiatric Genetics: Application in Clinical Practice* / ed. W. Jordan, M. D. Smoller, B. R. Sheidly, M. T. Tsuay. — Arlington : American Psychiatric Publishing Inc., 2008. — 337 p.
50. *Placental* biomarkers of phthalate effects on mRNA transcription: application in epidemiologic research / J. J. Adibi, R. Hauser, P. L. Williams [et al.] // *Environmental Health*. — 2009. — Vol. 8. — P. 20.
51. *Proteomic Technologies for Prenatal Diagnostics: Advances and Challenges Ahead* / M. Choolani, K. Narasimhan, V. Kolla [et al.] // *Expert Review of Proteomics*. — 2009. — Vol. 6, N 1. — P. 23-25.
52. *Chace D. H.* The application of tandem mass spectrometry to neonatal screening for inherited disorders of intermediary metabolism / D. H. Chace, T. A. Kalas, E. W. Naylor // *Clinical Chemistry*. — 2001. — Vol. 47. — P. 1945-1955.
53. *Tandem Mass Spectrometric Analysis for Amino, Organic, and Fatty Acid Disorders in Newborn Dried Blood Spots. A Two-Year Summary from the New England Newborn Screening Program* / T. H. Zytovicza, E. F. Fitzgerald, D. Marsden [et al.] // *Clin. Chem*. — 2001. — Vol. 47, N 11. — P. 1945-1955.
54. *Lokhov P. G.* Mass spectrometry methods in metabolomics / P. G. Lokhov, A. I. Archakov // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*. — 2009. — Vol. 3, N 1. — P. 1-9.
55. *Biochemical* Correction of Very Long-chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency Following Adeno-associated Virus Gene Therapy / J. Lawrence Merritt, T. Nguyen, J. Daniels [et al.] // *Molecular Therapy*. — 2009. — Vol. 17, N 3. — P. 425-429.
56. *Direct* Multiplex Assay of Enzymes in Dried Blood Spots by Tandem Mass Spectrometry for the Newborn Screening of Lysosomal Storage Disorders / M. H. Gelb, F. Turecek, C. R. Scott, N. A. Chamoles // *Journal of Inherited Metabolic Disease*. — 2006. — Vol. 29, N 2/3. — P. 397-404.
57. *Newborn* Screening Technology: Proceed with Caution / J. R. Botkin, E. W. Clayton, N. C. Fost [et al.] // *Pediatrics*. — 2006. — Vol. 117, N 5. — P. 1793-1799.
58. *Recent* advances in the molecular pathology, cell biology and genetics of ciliopathies / M. Adams, U. M. Smith, C. V. Logan, C. A. Johnson // *Journal of Medical Genetics*. — 2008. — Vol. 45. — P. 257-267.
59. *Стрельникова Н. К.* Оценка генетического риска облучения при рентгеновском исследовании женщин репродуктивного возраста // *Гигиена и санитария*. — 1989. — № 3. — С. 42-44.
60. *Scharden James L.* Chemical induced birth defects / James L. Scharden. — 5rd edition. — Informa Healthcare, 2000. — 1109 p.

Розділ 10. Молекулярна епідеміологія та раціональна фармакотерапія

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY AND RATIONAL PHARMACOTHERAPY

The achievements of the modern pharmogenetics and development of its new direction — pharmacogenomics are the background for molecular-epidemiological investigations on the spreading of the resistance to the prescribed medications amongst patients, which allows to develop new strategies of pharmacotherapy directed to the particular patient, i. e. conducting personalized treatment which has not only medical but also important social significance.

Фармакогенетика вивчає генетичні механізми індивідуальних особливостей взаємодії організму і ліків. Вже на початку свого розвитку у 50-х роках ХХ ст. вона ґрунтувалася на результатах, опрацьованих методами клінічної епідеміології. У подальшому, коли фармакогенетичні дослідження набули системного характеру, практично всі вони стали предметом становлення та розвитку молекулярної епідеміології.

Співпраця клініцистів, фармакологів, генетиків, епідеміологів та інших фахівців дозволила встановити, що всі етапи взаємодії лікарських засобів з організмом людини підлягають генетичному контролю. Так, зокрема, значну роль він відіграє на етапі транспорту ліків через біологічні мембрани. Найбільш вивченим є переносник ксенобіотиків із клітини MDR1. Він входить до групи В ABC-транспортерів (мембранних переносників) і являє собою Р-глікопротеїн.

Ген *MDR1* експресується в органах і тканинах, для яких властива функція екскреції (нирки, тонка кишка, печінка, плацента, сім'яники, клітини периферичної крові, ендотелій капілярів головного мозку). Враховуючи широкий спектр клітин, де експресується *MDR1*, було припущено, що його основною функцією є захист організму від ксенобіотиків. До речі, Р-глікопротеїн вперше був знайдений в пухлинних клітинах. У процесі досліджень встановили зв'язок цього білка з механізмом розвитку стійкості таких клітин до

протиопухлинних засобів. До того ж MDR1 обмежує надходження з кишкового тракту циклоспорину, серцевого глікозиду дигоксину. Він здійснює транспорт багатьох лікарських засобів.

Для *MDR1* властивий значний поліморфізм. Крім того, виявлені мутації гена *MDR1* у людини. Так, гомозиготи за мутацією С3435Т у 26-му екзоні трапляються у популяціях білих людей з частотою 28,6 %. У таких людей знижений рівень Р-глікопротеїну в кишках, тому при прийомі дигоксину *per os* спостерігається висока його концентрація у сироватці крові [1]. У чорних африканців відмічена більш висока експресія алеля 3435С порівняно з представниками білої та азіатської популяцій. Припускається, що СС-генотип і висока активність Р-глікопротеїну дають перевагу таким особам в ендемічних щодо шлунково-кишкових інфекцій регіонах. Це припущення підтверджується даними про важливу роль Р-глікопротеїну у захисті від бактеріальних токсинів [2].

У людини ідентифіковано білок-транспортер, який здійснює спрямований транспорт солей жовчних кислот через мембрану гепатоцитів (BSER). Ген *BSER* розташований у хромосомі 2p24. При цьому встановлено більш ніж 10 його мутацій, що призводять до порушення послідовності амінокислот у білку BSER. Вони є причиною прогресуючого внутрішньопечінкового сімейного холестазу 2-го типу. Вважають, що холестаза, який спостерігається при

прийомі деяких ліків (циклоспорину А), також пов'язаний зі зниженням синтезу BSEB.

У трансмембранному перенесенні важливе значення має підродина С білків ABC (MRP/CFTR-підродина). Так, MRP1 транспортує лікарські засоби або взаємодіє з ними, а також активними метаболітами (протиопухлинні, противірусні, нестероїдні протизапальні засоби, антибіотики), кон'югатами ліків / метаболітами [3]. Як відомо, MRP1 експресується на досить високому рівні в легенях, нирках, м'язах, яєчках, мононуклеарних клітинах крові [4]. Зважаючи на локалізацію MRP1 у клітинах, припускають, що він виконує захисну функцію, виводячи з клітин ліки та їх метаболіти.

Сьогодні ідентифікована чимала кількість поліморфізмів широкого спектра генів, які кодують MRP-споріднені переносники ліків. У майбутньому для ідентифікації гаплотипів потрібно проводити скринінгові дослідження серед етнічно різноманітного населення. Тоді можна визначити клінічно значущий поліморфізм в окремих популяціях.

Переважає кількість генетичних варіантів MRP-споріднених переносників ліків — це поліморфізм одиничних нуклеотидів (SNP), хоча знайдено і повтори коротких послідовностей, і короткі делеції. Частота поліморфізмів SNP варіює між різними генами MRP, а також між їхніми кодуючими та некодуючими ділянками. Молекулярно-епідеміологічними дослідженнями встановлено, що різноманітність залежить від розміру мутацій індивідуальних генів, розміру та демографічних особливостей популяції, що вивчається, часу, протягом якого накопичуються ці зміни, а також від інших біологічних факторів. До складу поліморфізмів кодуючих ділянок генів MRP входять місенс-мутації у вигляді заміни нуклеотидів, нонсенс-мутації у вигляді стоп-кодонів і «мовчазні» мутації.

У білку CFTR приблизно 80 % усіх мутацій, що викликають кістозний фіброз, розташовані в нуклеотид-зв'язувальних доменах і майже всі вони спричиняють тяжку форму хвороби. Значна кількість

мутацій, що призводить до еластичної псевдоксантоми, синдрому Дабіна — Джонсона, персистуючої гіперінсулінемії немовлят була виявлена саме у цих доменах генів білків-транспортів.

Відомі поліморфізми SNPs у MRP1 локалізуються, в основному, в інтронних послідовностях та інших некодуючих ділянках гена, хоча відомо і про нонсенс-мутації поліморфізму SNPs. Вони виникають з однаковою частотою всередині популяцій та між різними популяціями. Наприклад, поліморфізм SMP G3104C в екзоні 23, який викликає заміну Ser на Cys у CL6, трапляється серед афро-американського населення з частотою 4,5 %, а у представників білої раси його не знайдено. Поки що жоден з відомих поліморфізмів MRP1 не асоціюється з будь-яким захворюванням чи незвичайною відповіддю на лікарський засіб. Тому необхідні подальші скринінгові дослідження у цьому напрямі [5; 6].

Після клонування MRP2 було визначено молекулярні основи автосомно-рецесивної хвороби, відомої як синдром Дабіна — Джонсона. Багато точкових мутацій і невеликі делеції у хворих на цю хворобу знаходяться також у нуклеотид-зв'язувальних доменах. Так, гомозиготні мутації Arg 768 Trp (C2302T) та Gln 1382 Arg (A4145G) локалізуються в двох різних доменах. При цьому перша з них порушує дозрівання MRP2 і його приєднання до апікальної мембрани клітини, а друга — знижує перенесення органічних аніонів лейкотрієну C₄ і субстрат-індукований гідроліз АТФ [7; 8].

Значно менше вивчені білки — транспортери MRP2–MRP5. Беручи до уваги роль MRP2 у міліарній екскреції та в абсорбції ксенобіотиків у кишках, цей мембранний переносник слід вважати перспективним у подальших фармакогенетичних і молекулярно-епідеміологічних дослідженнях. Поліморфізми MRP4 та MRP5 описано в японській та європейській популяціях. Вони призводять до зміни амінокислотної послідовності в консервативних ділянках і не впливають на функцію білків. Зважаючи на роль MRP4 та MRP5 у перенесенні простагландинів і відновленого глутатіону, що може впливати на транспорт

ліків, можна передбачити їх значущість для майбутніх фармакогенетичних досліджень.

Слід зазначити, що наведені приклади генного контролю транспорту лікарських засобів через мембрани клітини мають моногенний характер. Вони демонструють тонкі механізми трансмембранного перенесення. Відповідь на будь-який ксенобіотик рідко визначається одним геном. У більшості випадків вона має мультигенну природу. Дійсно, важливу роль у регуляції біологічних процесів у клітині та взаємодії з ліками відіграють молекулярні механізми сигнальних систем, включаючи і взаємодію рецепторів із лігандами (рис. 10.1).

Молекулярно-генетичні методи у зіставленні з фармакологічними та біохімічними методами дозволили визначити роль змін рецепторних білків у розвитку деяких захворювань. Яскравим прикладом є вивчення порушень у структурі інсулінового рецептора. Резистентність до інсуліну може бути зумовлена різними мутаціями.

Так, відома мутація у вигляді SNP у кодоні 735 екзона 2 (AGC-GT), що викликає заміну Arg на Ser. Внаслідок цього попередник рецептора не розділяється на α -та β -субодиниці. Інший вид мутації (екзон 17) викликає зміни амінокислотної послідовності в АТФ-зв'язувальній ділянці рецептора, який забезпечує активацію тирозинкінази. Відомо ще про низку мутацій, що призводять до порушення функцій цього рецептора.

Важливе значення в метаболізмі ліків відіграють ядерні рецептори, які регулюють синтез відповідних ферментів. Тому їхній поліморфізм також може впливати на фармакокінетику, елімінацію ліків з організму та, відповідно, на реакцію організму на лікарський засіб.

У свою чергу, гени ферментів (що метаболізують ліки), які регулюються ядерними рецепторами, самі мають поліморфізми в регулювальних послідовностях. Вони порушують здатність «нормальних» рецепторів діяти на цей ген.

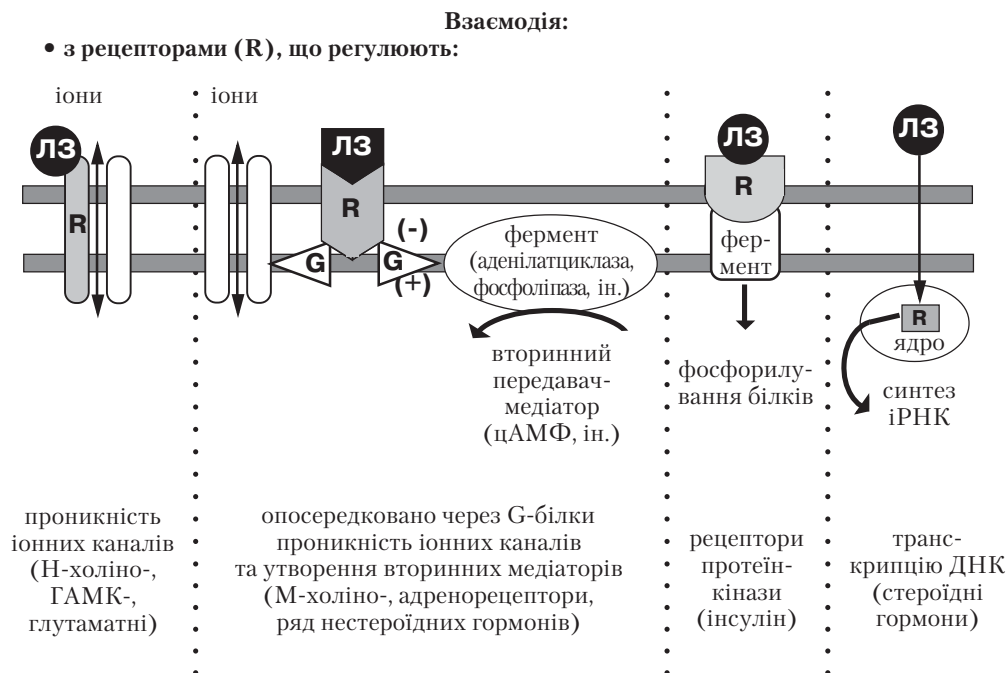


Рис. 10.1. Схематичне зображення взаємодії лікарських засобів з організмом

Різноманітні ксенобіотики (ліки), які надходять в організм через шлунково-кишковий тракт, легені, шкіру, при введенні в кров підлягають метаболізму спеціальними ферментними системами. Більшість лікувальних засобів — маленькі ліпофільні молекули. Проникаючи в організм, вони метаболізуються з утворенням гідрофільних продуктів, які видаляються із сечею та жовчю. Процес такого перетворення відбувається, в основному, в печінці та складається з двох послідовних фаз (рис. 10.2).

Фаза I полягає в окисненні лікарського засобу цитохром Р450-залежними монооксигеназами, а також іншими ферментами, наприклад, алкогольдегідрогеназою. Ферменти цитохрому Р450 беруть участь в окисненні, відіграють у метаболізмі ксенобіотиків подвійну роль. З одного боку, вони інактивують лікарський засіб та чужорідні хімічні речовини, готуючи їх до елімінації з організму, а з другого — активують промутагени і проканцерогени, перетворюючи їх в електрофільні інтермедіати, що ушкоджують ДНК. Таким чином вони можуть брати участь у процесах мутагенезу та канцерогенезу [9–11]. Фаза II — кон'югація — включає сульфатування, ацетилювання, а потім глюкуронування. У процес каталізу зазначених реакцій залучаються деякі ферменти, у тому числі глутатіон-S-трансфераза, О- та N-ацетилтрансферази, УДФ-

глюкуронілтрансфераза, сульфотрансферази, які завершують цикл детоксикації.

Практично всі ферменти, які беруть участь у метаболізмі ліків, зосереджені переважно в печінці. Однак ізоензимні форми наявні також у багатьох інших органах і тканинах (кишки, легені, нирки, кров, шкіра). Наявність мультигенних родин ферментів, кожний з яких проявляє унікальну субстрат-специфічність, пояснюється величезним спектром хімічних речовин, які надходять ззовні та які вони метаболізують. Від швидкості метаболізму лікарських засобів ферментними системами залежить тривалість знаходження їх у кровотоці і, як наслідок, кінцевий терапевтичний ефект.

Поліморфізм у дії медикаментів пояснюється мутаціями у генах, які відповідають за синтез ферментів метаболізму ксенобіотиків. Мутації можуть призводити до посилення або послаблення і навіть відсутності ферментативної активності.

Генетична різноманітність в експресії генів, які контролюють ферменти фази I та фази II — один з основних факторів розвитку токсичності або канцерогенності ксенобіотика.

Генетичний поліморфізм метаболізму ксенобіотиків визначає розподіл людей у популяціях на групи, які відрізняються за своїми властивостями метаболізувати ліки:

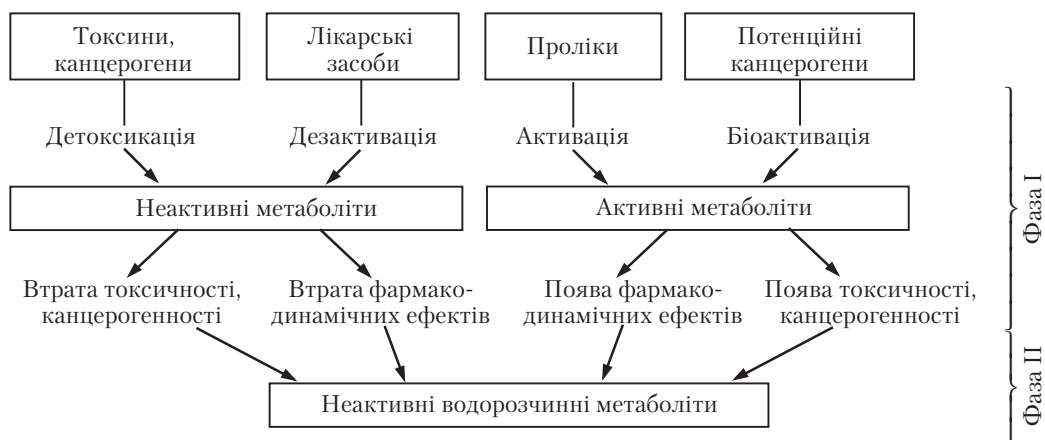


Рис. 10.2. Роль ферментів фази I і фази II у біотрансформації ксенобіотиків

від недостатніх до надшвидких метаболізаторів.

Досягнення молекулярної біології та геноміки значно поліпшили біохімічну характеристику ферментів P450. Виявилося, що цитохроми P450 діють на численні ендогенні субстрати, здійснюючи окиснення, перекисні та відновні перетворення в молекулах різних хімічних субстратів (ненасичені та насичені жирні кислоти, ейкозаноїди, стероїди, жовчні кислоти тощо). Поряд з цим, багато які з цитохромів P450 можуть метаболізувати різні екзогенні речовини, у тому числі ліки, хімікати, які забруднюють довкілля, природні речовини.

Клонування генів, біохімічні та імунохімічні зонди, отримані з ДНК, дозволили по-новому розглядати біологічну та клінічну роль окремих цитохромів P450.

Результати дослідження геному людини встановили, що у ньому міститься більше ніж 50 генів, які кодують ферменти цитохромів P450. Вони об'єднані у 17 родин. Родини 11, 24, 27 кодують мітохондріальні ферменти, а решта — мікосомальні P450. Крім того, ідентифіковано 14 псевдогенів, які не кодують функціональні білки.

Найчастіше поліморфізм трапляється у підродинах 1A, 1B, 2A, 2C, 2D, 2E, 3A [12].

В організмі людини нараховується близько 100 ферментів родин цитохромів P450. Хоча багато з них здатні метаболізувати певні ліки, значна частина P450-опосередкованого метаболізму лікарських засобів у людини проходить з участю двох ферментів: CYP3A4 і значною мірою — поліморфного CYP2D6 (табл. 10.1).

Причина того, що присутній в печінці у відносно малій кількості CYP2D6 бере участь у метаболізмі 1/4 всіх лікарських засобів, пояснюється тим, що це, в основному, нейротропні речовини. Фермент CYP2D6 виявлено в головному мозку і, можливо, він виник для захисту клітин мозку від нейротоксинів довкілля [13]. Його субстратами є нейролептики, трициклічні антидепресанти, антиаритмічні засоби, β-блокатори, наркотичні аналгетики. Фермент CYP3A4 метаболізує багато природних антибіотиків, що пояснює його центральну роль у метаболізмі ліків. Хоча

Таблиця 10.1
Ферменти сімейства цитохромів
P450 людини [46]

Фермент	Відносний вміст у печінці, %	Відносний внесок у метаболізм лікарських засобів, %
CYP3A	28,8	51,0
CYP2D6	1,5	24,0
CYP1A2	12,7	5,0
CYP2A6	4,0	—
CYP2C	18,2	19,0
CYP2B6	0,2	—
CYP2E1	7,0	1,0
Інші	28,0	—

CYP3A4 та CYP2D6 каталізують більшість реакцій окиснення лікарського засобу у людини, інші ферменти P450 можуть відігравати основну роль у метаболізмі за рахунок інших механізмів. Наприклад, CYP2C19 метаболізує транквілізатори, протисудомні речовини, інгібітори протонної помпи. Цитохром CYP2C9 бере участь у метаболізмі антидіабетичних засобів, антигіпертензивного засобу лозартану.

Комплекс цитохрому P450 — це система першого захисту від ксенобіотиків. Вона визначає біологічний період напіввиведення більшості ліків. Результатом цитохром P450-опосередкованих реакцій є перетворення попередників медикаментів у активні форми. Наприклад, активація протиракового засобу циклофосфаміду в його активний метаболіт або перетворення кодеїну в морфін. Ферменти метаболізму лікарського засобу можуть мати і негативну дію, сприяючи розвитку злоякісних пухлин. Більшість канцерогенів надходять в організм людини в неактивній формі. Однак під дією ферментів метаболізму ліків вони піддаються біоактивації і набувають канцерогенних властивостей.

Важлива роль системи цитохромів та її виражений поліморфізм визначають такі можливі варіанти розвитку терапевтичної дії лікарських засобів:

— відсутність очікуваної дії внаслідок надшвидкого метаболізму та виведення препарату з організму;

- відсутність активації проліків;
- токсичні ефекти як наслідок кумуляції;
- біотрансформація у токсичні метаболіти.

Модуляція функції цитохрому Р450 може бути причиною небажаних реакцій взаємодії медикамент/медикамент, які розвиваються, якщо один лікарський засіб пригнічує Р450-опосередкований метаболізм іншого препарату за умови, що вони потрапили в організм одночасно (рис. 10.3).

Наприклад, фуранокулірин, бергамоти та флавоноїд нарингерин, які входять до складу соку грейпфрута, пригнічують активність СYP3A4. Це може призвести до небажаних реакцій при прийомі інгібітора протеаз ВІЛ саквінівіру, гіпохолестеринемічного засобу ловастатину та імунодепресанта циклоспорину [14; 15].

Вище було зазначено, що значна частина генів цитохрому Р450 — поліморфна. Найбільш вивченим є поліморфізм гена *CYP2D6*, що вперше був виявлений у 1977 р. у Великій Британії. У хворих на гіпертонічну хворобу, які лікувалися дебризохіном, спостерігали, що при прийомі звичайних доз медикаментів розвивалися небажані побічні ефекти або ці дози взагалі були не-ефективними. У подальшому серед хворих виявили швидких і повільних метаболізаторів. У європейській популяції повільні метаболізатори трапляються з частотою 5–10 %, а серед арабського населення — з частотою 1–2 %. Ген *CYP2D* локалізується у

хромосомі 22 (q13.1) і включає до свого складу два псевдогени (*CYP2D7* та *CYP2D8*) і поліморфний *CYP2D6*. Активність *CYP2D* варіює від повної відсутності до надшвидкого метаболізму, що залежить від комбінації близько 30 різних алелів. Приблизно 6 % популяції білих людей мають два нульових алелі в локусі *CYP2D6*. У Великій Британії майже 3,6 млн людей не експресують цей фермент (повільні метаболізатори), внаслідок чого у них порушений метаболізм багатьох ліків, які є субстратами для *CYP2D6*.

Дефектні алелі можуть виникати внаслідок делеції гена, наявності точкових мутацій, зрушення рамок читування. З нуль-генотипом *CYP2D6* пов'язана різноманітність фенотипних наслідків: рідкісні анормальні летальні випадки від ліків, наприклад, від перфексиліну при стенокардії; відсутність терапевтичного ефекту внаслідок надшвидкого метаболізму або відсутності активації попередника (проліків). З-поміж дефектних алелів найбільш поширеними між європейцями є *CYP2D6**4 (0,1–0,2 %), *3 (0,07–0,14 %), *5 (0,01–0,08 %), *6 (0,013–0,018 %). Крім повністю дефектних алелів, є такі, що викликають незначне зниження або зміну метаболізму лікарського засобу. Наприклад, алель *CYP2D6**10 часто трапляється в китайській популяції. Він кодує фермент зі зниженою активністю. Аналогічним є алель *17, який поширений в африканській популяції людей.

Для багатьох алелів *CYP2D6* не встановлено чіткого фенотипу, що утруднює виділення відповідних груп чутливих до ліків людей. Ці питання генетики мають розв'язувати разом із фахівцями в галузі молекулярної епідеміології.

У деяких осіб — надшвидких метаболізаторів, які нечутливі або мають слабку відповідь на прийом медикаментів — субстратів *CYP2D6*, виявлено виражений поліморфізм цього гена. Причиною поліморфізму була ампліфікація гена *CYP2D6*. У деяких людей спадкується від 2–3 до 13 тандемно розташованих копій *CYP2D6*. Їм необхідно значно збільшувати дози препаратів, які метаболізуються *CYP2D6*, для



Рис. 10.3. Генетичний механізм взаємодії лікарських засобів

досягнення помітного терапевтичного ефекту [16]. Мультікопії *CYP2D6* найчастіше трапляються серед мешканців Ефіопії та Саудівської Аравії. Близько 30 % населення цих країн — надшвидкі метаболізатори. Наявність мультікопій функціонального активного гена *CYP2D6* призводить до того, що у його носіїв метаболізм певних ліків перебігає більш інтенсивно. Внаслідок цього рівень лікарського засобу в циркулюючій крові при звичайних дозах не досягає терапевтичних концентрацій. Вперше таке явище спостерігали у хворого, якому для досягнення терапевтичної ефективності потрібно було втричі збільшити дозу нортриптиліну. При цьому було встановлено, що він є носієм трьох активних генів *CYP2D6*.

Молекулярно-епідеміологічні дослідження поліморфізму *CYP2D6* мають важливе значення для клінічної практики. Як було зазначено вище, цей фермент метаболізує деякі медикаменти, які часто призначають хворим і які мають низький терапевтичний індекс. Збільшення дози цих препаратів викликає підвищення концентрації їх у крові, але не приводить до збільшення терапевтичного ефекту. Часто така тактика викликає небажані токсичні прояви. Наприклад, у повільних метаболізаторів при лікуванні різних видів аритмій пропafenом та мексилетином спостерігалися як побічні прояви нудота, блювання, аритмія.

Внаслідок уповільнення активації проліків цитохромом *CYP2D6* у повільних метаболізаторів спостерігається низька їх ефективність, зокрема, знижується анальгезуюча дія трамадолу.

Виражений поліморфізм спостерігається також у гена *CYP2C9*. Він має нульовий алель з відомими фенотипними проявами. *CYP2C9* метаболізує незначну частину ліків, але його субстрати (діазепам, омепразол, пропанолол, прогуаніл, толбутамід) часто призначаються хворим людям [17; 18].

Гомозиготні носії дефектних алелей гена *CYP2C9* входять до групи людей з високим ризиком розвитку побічних ефектів лікувальних засобів, які є субстратом для його ферменту. Таких людей налічується

приблизно 2–4 % в європейській популяції та 10–25 % серед азіатського населення. У хворих на виразкову хворобу — гомозигот з дефектним алелем *CYP2C9* — спостерігається багатократне збільшення концентрації омепразолу порівняно з хворими, які є швидкими метаболізаторами. У повільних метаболізаторів подовжується період напіввиведення, що свідчить про зміну фармакокінетичних параметрів препарату. У гетерозигот за дефектним алелем при призначенні стандартних доз омепразолу спостерігали підвищення інтрагастрального рН і рівня гастрину в плазмі порівняно з гомозиготами нормального гена *CYP2C9*.

Клінічно зумовлений фенотип може бути пов'язаний з алелем *CYP2C9*, який відрізняється тільки за кодуванням однієї амінокислоти. Це було з'ясовано у гомозиготного за цим алелем пацієнта, в якого виникла тяжка варфарінова інтоксикація при лікуванні інфаркту міокарда. Крім варфарину, *CYP2C9* метаболізує лозартан, нестероїдні протизапальні засоби [19]. Його ген має один не мутантний (*CYP2C9* *1) та два мутантні алелі (*CYP2C9* *2 і *3) з дуже низькою активністю. Частота зустрічальності останніх у європейській популяції становить 10,7 та 7,4 % відповідно. Дослідженнями встановлено, що кліренс варфарину у носіїв мутантного алеля *CYP2C9* *3 у гомозигот дорівнює 66 %, а у гетерозигот — 90 % щодо домінантних гомозигот [20]. Відомі випадки, коли доза варфарину 0,5 мг/добу викликала клінічний ефект у гомозигот за рецесивним алелем *CYP2C9* *3. Одночасно для досягнення такого ж ефекту в домінантних гомозигот добову дозу слід збільшити у 10–16 разів.

Носії мутантних алелей *CYP2C9* також входять до групи ризику стосовно прийому непрямих антикоагулянтів. У них існує велика імовірність розвитку кровотеч як побічних ефектів препаратів цієї групи. Генотипування таких пацієнтів перед лікуванням дозволяє знизити дозу препарату та запобігти розвитку ускладнень [21].

Відомо, що фермент *CYP2C9* перетворює гіпотензивний лікарський засіб лосартан на фармакологічно активну форму — карбоксиметаболіт E-3174. У рецесивних

гомозигот *CYP2C9* *3, порівняно з доміантними гомозиготами, в активну форму переходить лише 5 % лосартану [22].

Поліморфізм цього гена має значення і для індивідуалізації терапії нестероїдними протизапальними засобами. Доведено, що фармакокінетичні параметри теноксикаму достовірно вищі у здорових волонтерів з генотипами *CYP2C9* *1 / *CYP2C9* *2 та *CYP2C9* *2 / *CYP2C9* *3, ніж в осіб, які мають генотип *CYP2C9* *1 / *CYP2C9* *1. Аналогічні результати дістали й стосовно кліренсу ібупрофену. Можливо, що розбіжність у генотипах хворих може бути причиною підвищеного ризику розвитку небажаних реакцій на зазначені медикаменти у пацієнтів певних груп [23].

Біотрансформацію флувастатину — одного з найбільш ефективних гіполіпідемічних лікарських засобів — здійснює *CYP2C9*. Не виключено, що при тривалому прийомі генетичний поліморфізм *CYP2C9* може впливати як на гіполіпідемічну дію препарату, так і на розвиток небажаних реакцій [24].

Гени ферментів фази II перетворення лікарських препаратів також належать до поліморфних, зокрема, родин глутатіон-трансферази, N-ацетилтрансферази, УДФ-глюкуронілтрансферази та сульфотрансферази. Гени глутатіон-S-трансферази *GSTM1* та *GSTT1* часто мають делеції, а ген *CSTP1* — алельні варіанти із заміною однієї амінокислоти, які впливають як на стабільність білка, так і його субстратну специфічність.

Добре вивчено поліморфізм ацетилювання. Він пов'язаний з присутністю множинних алелей локусу гена *NAT2*. Фермент *NAT2* відповідає за метаболізм багатьох медикаментів, що часто призначаються хворим, включаючи протитуберкульозний засіб ізоніазид, стимулятор кофеїн, гетероциклічні аміни канцерогенів. Поліморфна мінливість призводить до тримодального розподілу фенотипів ацетилювання. Незважаючи на те, що прямий ефект поліморфізму ферментів фази II частіше менше виявляється, ніж генетично зумовлена мінливість у експресії ферментів P450, ефект спадкових змін в обох фазах метаболізму може бути синергічним [25].

Результати генетичних і молекулярно-епідеміологічних досліджень свідчать про важливе значення поліморфізму *NAT* як в ефективності хіміотерапії, так і для якості життя залежно від ступеня детоксикації. Поліморфізм N-ацетилювання був відкритий при застосуванні ізоніазиду в лікуванні хворих на туберкульоз. Виявилося, що ізоніазид, гідразин, деякі сульфаніламідні засоби ацетилюються з участю поліморфного ферменту *NAT2*. Ацетилярний поліморфізм пов'язаний з мутаціями в локусі *NAT2*. В науковій літературі постійно описують нові варіанти алелей *NAT*. За допомогою методу поліморфізму довжини рестрикції фрагментів ДНК ідентифіковано 15 алелей *NAT2* гена для ізоніазидного поліморфізму. У людини варіабельна також експресія *NAT1*, у якого вже відомо 9 алелей [26]. Наприклад, *NAT1**14 та *NAT1**15 продукують дефектний білок *NAT1*, який затримує метаболізм *NAT1*-залежних субстратів. Навпаки, *NAT1**10 асоціюється з підвищеною активністю *NAT1* і збільшенням ризику розвитку раку кишок і сечового міхура. Хоча *NAT2* локалізується, в основному, в печінці, але в незначних кількостях виявляється у шкірі, легенях, нирках. Він бере участь в ацетилюванні низки препаратів, а також великої кількості ариламінів і ксенобіотиків, які викликають в організмі людини небажану дію, зокрема і розвиток злоякісних новоутворень.

Для виділення з організму токсичних речовин необхідна їх метаболічна активація. Важливий етап у метаболічній активації та дезактивації ариламінів — ацетилювання. Внаслідок N-кон'югації ариламінів утворюються нетоксичні стабільні продукти (N-ацетати, N-глюкуроніди, N-сульфати). У цьому процесі беруть участь *NAT1*, *NAT2*, а також УДФ-глюкуронілтрансфераза, сульфотрансфераза. Шляхи метаболізму ксенобіотика залежать від активності цих ферментів, а також від виду ксенобіотика та його кількості. Наприклад, *NAT2**2 алелі визначають швидке ацетилювання, а *5B, *6B та мало розповсюджені алелі *5A, *5C, *6B, *7B, *14B кодують повільне ацетилювання. Повільні ацетилятори значно відрізняються між собою. Так, алелі *6A та

*7В кодують ферменти, які мають меншу ацетилюючу активність, ніж алелі групи *5. Передбачається, що з алелями групи *5 пов'язано зменшення кількості ферменту NAT2 у печінці внаслідок порушення процесу трансляції, а *6А алель забезпечує синтез нестійкого ферменту [27].

У різних популяціях людей частота зустрічальності алелів прискореного метаболізму NAT2*4 різна: у японців — 69 %, китайців — 51 %, а європейців — 23 %. Такі алелі сповільненого метаболізму, як NAT2*14А та *14В трапляються виключно у представників негроїдної раси.

Молекулярно-епідеміологічні дослідження підтвердили важливість проблеми застосування тих чи інших ліків при різних захворюваннях із врахуванням варіантів генотипу NAT2. Зокрема, встановлено, що призначення сульфосалазину хворим на системний вовчак може призводити до різних ефектів. Пацієнти, в яких спостерігалася добра терапевтична дія, були швидкими ацетиляторами. У сповільнених ацетиляторів таке лікування було неефективним. У зв'язку із зазначеним було зроблено висновок про тісну кореляцію між поліморфізмом NAT2 та різною чутливістю хворих на системний вовчак до сульфосалазину [28]. Ферменти NAT мають важливе значення в детоксикації при кон'югації різних аміно- та гідроксиламіногруп з участю ацетил-КоА, особливо для токсикології гомо- та гетероциклічних ариламінів і гідразинових ксенобіотиків [29].

Дані молекулярно-епідеміологічних досліджень свідчать про недостатність аналізу фенотипів NAT для визначення їх прогностичної значущості стосовно можливої токсичності, наприклад, ізоніазиду. За результатами досліджень індійських вчених, не встановлено впливу фенотипу NAT на вираженість гепатотоксичності ізоніазиду, рифампіцину та піразинаміду. Цей висновок впливає з результатів визначення швидкості ацетилювання в групах хворих на туберкульоз з лікарською гепатотоксичністю (перша група) і хворих на туберкульоз без ураження печінки (друга група). У першій групі співвідношення швидких і повільних ацетиляторів становило 70 та

30 %, а в другій групі — відповідно 66,9 і 33,1 %. Не знайдено залежності концентрацій гідралазину та ізоніазиду в крові від рівня ацетилювання у 34 здорових людей, 18 хворих на туберкульоз і 25 дітей з туберкульозним менінгітом, хоча у 4 хворих на туберкульоз і алкоголізм концентрація цих ліків була утричі вищою, ніж у інших хворих, при цьому в одного з них виявлено гепатотоксичність лікарських засобів [30].

Результати досліджень у Південній Африці, навпаки, свідчать про те, що повільний фенотип ацетилювання сприяє розвитку токсичності при фармакотерапії, особливо при комплексному призначенні протитуберкульозних препаратів. На фоні 50 % розповсюдженості повільних ацетиляторів у популяції одночасне застосування протитуберкульозних препаратів (ізоніазиду) призводило до інтоксикації фенітоніном. У 16 % хворих виявили токсичний рівень цього засобу в крові, у 70 % виникли епілептиформні напади. При підозрі відносно можливої токсичності та відповідному контролю вже через 12 тиж. лікування ізоніазидом симптоми неврологічних порушень спостерігали у 16 % хворих. Частіше вони відзначалися у повільних ацетиляторів. Молекулярно-епідеміологічні методи досліджень підтвердили, що ізоніазидна нейропатія притаманна особам з повільним метаболізмом цього препарату [31].

Серйозні ускладнення у хворих можуть виникати внаслідок біотрансформації гідралазину, який широко використовується у клінічній практиці як вазодилататор при гіпертензії (депресин, аделфан). У фазі II перетворення цього препарату утворюється ацетилований гідралазин, що спонтанно циклюється у стабільний продукт, побічним специфічним ефектом якого є вовчакоподібний синдром. Повільні ацетилятори більш чутливі до розвитку такої інтоксикації [32].

Генотипування дає можливість не тільки регулювати дози лікарських засобів, але давати також рекомендації особам, які належать до груп ризику щодо розвитку злоякісних пухлин. Зокрема, повільним ацетиляторам не рекомендовано вибір професій,

які передбачають контакт з ариламинами. Цих людей необхідно також інформувати про високий ризик розвитку раку сечового міхура при курінні та раку товстої кишки при вживанні у великій кількості смаженого м'яса.

Наразі немає сумнівів у тому, що расові, етнічні та інші розбіжності у людей залежать від генотипу. Достовірно встановлені чіткі етнічні відмінності в розповсюдженості алельних варіантів багатьох ферментів, які беруть участь у метаболізмі медикаментів. На ці розбіжності потрібно зважати при рутинному скринінгу нових лікарських засобів, особливо за призначення ліків, які є субстратом поліморфного метаболізму, пацієнтам, що мають різне етнічне походження.

Встановлено, що відсутність алеля або алелі, що з дуже малою частотою трапляються в осіб європейської популяції, можуть бути провідними в реакціях на лікарський засіб в інших популяціях, які формують специфічні етнічні групи, більш чутливі або більш стійкі до відповідної терапії. При збільшенні рівня етнічної гетерогенності всередині популяції можливо, що будь-який фармакологічний скринінг включатиме скринінг кожного пацієнта на всі відомі алелі відповідного поліморфного гена у відповідності з їхньою етнічною розповсюдженістю, якщо відомі його фенотипні наслідки.

Наприклад, поліморфний генотип *CYP2D6* встановлено у 6 % популяції європейців, у 2 % афроамериканців, менш ніж у 1 % представників східних популяцій [33]. Молекулярно-епідеміологічні дослідження генетичних основ цієї розбіжності були досліджені у східних популяціях, що пов'язано з відносно низькою розповсюдженістю у них суто «європейського» *CYP2D6* нульового алеля. І, навпаки, інші алелі *CYP2D6*, які дуже рідко трапляються у «західних» популяціях, відносно часті на Сході. Ці «східні» алелі не мають мутацій, що інактивують ген, але відрізняються зниженою активністю. Тому внаслідок високої частоти цих алелей у східних популяціях антидепресанти, які є субстратами для *CYP2D6*, звичайно призначаються в

низьких дозах порівняно з білою популяцією [33]. Подібна ситуація спостерігається і стосовно субстратів *CYP2C19*. Нульовий фенотип *CYP2C19* трапляється і у 3–5 % осіб білої популяції та більш ніж у 20 % китайців. Тому на сході дози лікарських засобів, які є субстратами *CYP2C19*, включаючи діазепам, значно менші.

Наявна також значна етнічна розбіжність у частоті «надшвидких» метаболізаторів гена *CYP2D6*. Частота їх зустрічальності становить 20 % в Ефіопії, 72 % — в Іспанії, 15 % — у скандинавських країнах.

Значна етнічна різниця спостерігається і щодо інших ферментів метаболізму ліків. Оскільки багато з цих алелей асоціюються з чутливістю до лікарських засобів, вони мають відношення і до чутливості до різноманітних хвороб в етнічно віддалених популяціях.

Інформативність і прогностична переконливість результатів фармакогенетичних досліджень визначаються факторами, які вирізняють у декілька груп [34]. Так, на генетично детерміновану активність ферментів значний вплив спричиняють:

- а) функціональний стан організму і окремих його систем (стать, вік, маса тіла, стан ендокринної, імунної систем тощо);
- б) наявність патологічних процесів (порушення метаболізму, кровотоку в печінці та нирках, хвороби печінки);
- в) зовнішній вплив (шкідливі чинники довкілля, професійна шкідливість, шкідливі звички — куріння, алкоголізм, характер харчування).

Разом із тим, при порівнянні з цими факторами фенотипів спостерігається чітка залежність.

Досі через обмежені можливості застосування дорогих методів генетичного аналізу накопичувалися переважно результати фенотипних проявів. Та вони вкрай неоднозначні. Уникнути помилок, наприклад, при обстеженні популяцій монголоїдної раси вдалося завдяки застосуванню методу метааналізу. Частота фенотипів повільних ацетиляторів у 3516 здорових китайців становила від 15,8 до 25,5 % ((19,9±4,0) %). У 1842 представників 17 ки-

тайських меншин цей показник значно коливався — від 3,2 до 50,6 % ($(20,6 \pm 1,2)$ %).

У більшості випадків фенотипні прояви активності ферменту корелюють із генотипом. У представників європейської популяції (Швейцарія) генотип відповідав фенотипу швидкого метаболізму дебризохіну в усіх 74 обстежених та у 6 із 8 повільних метаболізаторів. Загалом результати ДНК-аналізу збігаються з фенотипом у 97,5 % випадків. Це свідчить про те, що нагромадження мутантних алелей у популяції, і навіть в окремих родинах, збільшує розрив зв'язків між варіабельністю геному та проявами фенотипу. Як відомо, існує послідовність варіацій структури ДНК, фенотипний ефект яких проявляється від нульового до незначного, малого, помірного, значного і надзначного. У переважній більшості випадків гени взаємодіють один з одним та з чинниками довкілля, таким чином діючи на фенотип. Ці взаємодії стосуються і функціонування ферментів. Їх фенотипні властивості виявляються гетерогенними на фоні властивостей основного гена, який визначає генотип цієї ознаки [35].

У цьому розділі ми спробували висвітлити деякі механізми індивідуальних особливостей взаємодії організму і ліків, які пов'язані з генетичними властивостями гено- та фенотипів, від чого, в першу чергу, залежать фармакотерапевтична ефективність застосування медикаментів, режим дозування тощо, і які віддзеркалюють їх фармакокінетику, біотрансформацію та елімінацію.

Цілком очевидним є той факт, що в майбутньому технічні можливості дозволять вивчати конкретний «генетичний профіль» пацієнта і максимально індивідуалізовано призначати відповідну фармакотерапію.

Проте нерідко пацієнту призначають антимікробні засоби, де до генетичних особливостей макроорганізму приєднуються генетичні властивості мікроорганізму. Ця система стає надто складною. З одного боку, антимікробний засіб взаємодіє з організмом пацієнта й викликає ті чи інші зміни в кінцевих ефектах експресії генів,

які ускладнюються функціональним станом організму, наявністю патологічних процесів, зовнішнім впливом тощо.

З другого боку, лікарський препарат впливає на того чи іншого збудника, який знаходиться в організмі пацієнта, причому дозовий режим, умови прийому препарату, в першу чергу, враховують його фармакологічну активність відносно збудника. І тільки потім враховуються небажані ефекти стосовно пацієнта.

Ось чому сьогодні однією з актуальних проблем фармакотерапії антимікробних засобів є їх ефективність і безпечність. Ці дві складові перебувають у довічному протиріччі: підвищення ефективності, як правило, потребує збільшення дози, а збільшення дози зменшує безпечність ліків.

Зменшення терапевтичної ефективності антимікробних засобів передусім пов'язане з розвитком високого рівня медикаментозної резистентності. В НДІ клінічної біофізики Одеського державного медичного університету протягом останнього десятиріччя тривають дослідження з вивчення резистентності до протитуберкульозної фармакотерапії. Ці дослідження проводяться разом із вченими Національної референс-лабораторії з діагностики туберкульозу Великої Британії.

На прикладі фармакотерапії туберкульозу в Одеському регіоні продемонструємо найважливіші закономірності резистентності до протитуберкульозних засобів. Як відомо, переломним моментом в історії хіміотерапії туберкульозу стало відкриття протитуберкульозної дії стрептоміцину та парааміносаліцилової кислоти, а потім і інших ліків (ізоніазид, етамбутол, рифампіцин тощо). Протягом 20–30 років з моменту відкриття та застосування цих протитуберкульозних засобів у більшості розвинутих країн, включаючи колишній СРСР, спостерігалось різке зменшення захворюваності на туберкульоз, а розвитку резистентних штамів мікобактерії туберкульозу практично не спостерігалось [36]. Більше того, у 80-х роках ХХ ст. у багатьох країнах було порушено питання про повну ліквідацію туберкульозу.

Проте із середини 80-х – початку 90-х років було відмічено різке зростання кількості резистентних і мультирезистентних штамів, частка яких на цей час досягла загрозливих показників. Якщо у деяких країнах Західної Європи частка резистентних штамів не перевищує 5–6 %, з яких не більше половини є мультирезистентними [37], то у країнах СНД ці показники значно вищі, а нерідко досягають 40–50 % [38; 39]. В Україні поширеність резистентних і полірезистентних штамів *M. tuberculosis* вивчена вкрай недостатньо. За деякими оцінками, вона коливається від 14 до 40 % і більше, причому за останні роки відмічається швидкий ріст кількості полірезистентних штамів [40; 41]. На жаль, розвиток стійких до антибактеріальних препаратів штамів є неминучою платою за їх застосування. Як точно помітив американський вчений S. B. Levy [42], питанням при цьому є не «як» і «за яких умов», а «коли – тобто раніше чи пізніше» розвинеться резистентність. Сьогодні як ніколи актуальною є думка відомого мікробіолога і біохіміка Кенетті про те, що лікарська стійкість мікробактерій – це надзвичайно широке поле діяльності, де є над чим замислитись і клініцисту, і патологу, і фармакологу, біохіміку, епідеміологу, генетику.

За даними наших досліджень, в Одеському регіоні у 2006–2007 рр. найнижчий в Україні рівень первинної резистентності до протитуберкульозних препаратів I ряду зареєстровано у піразинаміді – 22,2 %, а найвищий – до стрептоміцину і рифампіцину – 59,3 і 61,1 % відповідно; мультирезистентність виявлялась у 23,0 %. Найнижчий рівень вторинної резистентності до препаратів I ряду був зареєстрований також у піразинаміді – 42,9 %, а найвищий – до рифаміцину – 80,6 %; мультирезистентність сягала 64,1 %. Рівень первинної резистентності до протитуберкульозних препаратів II ряду був найвищим у пефлоксацину, етіонаміді й амікацину і перебував у діапазоні 66,7–76,5 % (табл. 10.2).

Найнижчими показники первинної резистентності були у канаміцину, ПАСК, ломефлоксацину, левофлоксацину і офлоксацину від 0 до 9,8 %, що водночас підтвер-

Таблиця 10.2

Поширеність мутацій у генах *rpoB*, *katG*, *embB* серед різних штамів збудника туберкульозу, %

Ген збудника туберкульозу	Родина Beijing	Родина non-Beijing
Первинна мутація		
<i>katG</i>	53,3	17,9*
<i>rpoB</i>	40,0	14,3*
<i>embB</i>	13,3	3,6
<i>katG+proB</i>	33,3	7,1*
Набута мутація		
<i>katG</i>	77,8	64,3
<i>rpoB</i>	63,0	50,0
<i>embB</i>	25,9	14,3
<i>katG+rpoB</i>	55,6	39,3*

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно штамів, що належали до родини Beijing.

джує резервну роль цих фармакологічних препаратів [43].

Метод мультиплексної алей-специфічної ПЛР виявив найбільшу специфічність при визначенні мутації в гені *rpoB*, що досягла 93,8 % і найбільшої чутливості при визначенні мутації в гені *katG*, що дорівнювала 87,5 %. Поширеність мутацій у генах *katG*, *rpoB* і *embB*, що асоціюються з резистентністю *M. tuberculosis* до ізоніазиду, рифампіцину й етамбутолу, в Одеському регіоні становила 54,2, 44,9 і 15,0 % відповідно [44; 45].

Мутації у генах *katG* і *rpoB*, що обумовлюють резистентність збудника туберкульозу до ізоніазиду і рифампіцину, спостерігалися частіше у хворих, які раніше перебували в місцях позбавлення волі або вже отримували протитуберкульозну терапію, що свідчить про значне поширення медикаментозно-резистентних штамів у пенітенціарних закладах і розвиток резистентності під час протитуберкульозної терапії. Наявність цих мутацій асоціювалася з меншою ефективністю протитуберкульозної хіміотерапії, що клінічно проявлялось у гальмуванні процесів розсмоктування та рубцюванні осередків у легенях, збереженні бактеріовиділення (табл. 10.3).

**Поширеність мутації в кодоні 315 гена *katG* у збудника туберкульозу
й успішність лікування хворих на туберкульоз**

Успішність лікування		Групи хворих		
		Мутація є, n=58	Мутації немає, n=49	Загалом, n=107
Причини виписування	Продовження лікування	20*	34	54
	Перерва у лікуванні	30*	13	43
	Смерть	7*	1	8
	Інше	1	1	2
Розсмоктування туберкульозних інфільтратів порожнини		9	25	34
Бактеріовиділення за даними мікроскопії		44	10	54
Бактеріовиділення за даними культурального методу		54	41	95

Примітка. * — $p < 0,05$ відносно хворих, які виділяли штам збудника туберкульозу без мутації, що вивчалася.

Генотипування збудника туберкульозу за шістьма локусами MIRU10-MIRU26-MIRU31-MIRU39-MIRU40-ETR виявило високу дискретну здатність цього методу. Було визначено штами родини Beijing, а також штами з груп LAM, URAL, що відрізнялися високим рівнем медикаментозної резистентності. Проведено генотипування штамів збудника туберкульозу з дуже високим рівнем резистентності до ізоніазиду і рифампіцину, носії яких мали попередній туберкульозний контакт. Ці ізоляти набули особливого значення у поширенні медикаментозно резистентних штамів збудника туберкульозу серед населення Одеського регіону.

Серед ізолятів родини Beijing і груп non-Beijing були виявлені кластери, що мали високий рівень мутацій генів *katG* і *rpoB*, які обумовлювали резистентність до ізоніазиду та рифампіцину відповідно. Зокрема, обидві мутації були присутні у кластерів 375344, 385334, 712234.

Отримані результати підтвердили актуальність постійного моніторингу рівня медикаментозної резистентності збудника туберкульозу, що дозволить покращити ефективність застосування протитуберкульозних препаратів.

Таким чином, дані аналізу патернів резистентності у сукупності з даними молекулярної епідеміології дозволяють вивчати ступінь генетичної гетерогенності штамів *M. tuberculosis*, які циркулюють у Південному регіоні України, та їх резистентність до протитуберкульозних препаратів.

кулярної епідеміології дозволяють вивчати ступінь генетичної гетерогенності штамів *M. tuberculosis*, які циркулюють у Південному регіоні України, та їх резистентність до протитуберкульозних препаратів.

Список літератури

1. Серединин С. Б. Лекции по фармакогенетике / С. Б. Серединин. — М. : МИА, 2004. — 303 с.
2. Induction of human CYP2C9 by rifampicin, hyperforin, and phenobarbital is mediated by the pregnane X receptor / Y. Chen, S. S. Ferguson, M. Negishi, J. A. Goldstein // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2004. — Vol. 308. — P. 495-501.
3. Differential involvement of multidrug resistance-associated protein 1 and P-glycoprotein in tissue distribution and excretion of grepafloxacin in mice / H. Sasabe, Y. Kato, M. Itose [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Therap. — 2004. — Vol. 310. — P. 648-655.
4. The potential impact of drug transporters on nucleoside-analog-based antiviral chemotherapy / P. Borst, J. Balzarini, N. Ono [et al.] // Antiviral. Res. — 2004. — Vol. 62. — P. 1-7.

5. *Functional* and structural consequences of cysteine substitutions in the NH₂-proximal region of the human multidrug resistance protein 1 (MRP1/ABCC1) / E. M. Leslie, I. L. Letourneau, R. G. Deeley, S. P. C. Cole // *Biochemistry*. — 2003. — Vol. 42. — P. 5214-5224.
6. *Trafficking* defect and function defect by mutations of the ATP-binding domains in multidrug resistance protein 2 in patients with Dubin — Johnson syndrome / K. Hashimoto, T. Uchiumi, T. Konno [et. al.] // *Hepatology*. — 2002. — Vol. 36. — P. 1236-1245.
7. *Genetic* polymorphisms in the multidrug resistance-associated protein 3 (ABCC3, MRP3) gene and relationship to its mRNA and protein expression in human liver / T. Lang, M. Hitzl, O. Burk [et. al.] // *Pharmacogenetics*. — 2004. — Vol. 14. — P. 155-166.
8. *Handschin C.* Induction of drug metabolism: the role of nuclear receptors / C. Handschin, U. A. Meyer // *Pharmacol. Rev.* — 2003. — Vol. 55. — P. 649-673.
9. *Nebert D. W.* P 450 genes: Structure, evolution and regulation / D. W. Nebert, F. J. Gonzalez // *Annu. Rev. Biochem.* — 1987. — Vol. 56, N 3. — P. 572-593.
10. *Clapper M. L.* Genetic polymorphism and cancer risk / M. L. Clapper // *Curr. Oncol. Rep.* — 2000. — Vol. 2. — P. 251-256.
11. *Role* of the aromatic hydrocarbon receptor and (Ah) gene battery in the oxidative stress response, cell cycle control, and apoptosis / D. W. Nebert, A. L. Roe, M. Z. Dieter [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 59. — P. 65-85.
12. *Xenobioticmetabolizing* cytochromes P450 convert prostaglandin endoperoxide to hydroxyheptadecatrienoic acid and the mutagene, malondialdehyde / J. Plastaras, F. Guengerich, D. Nebert, L. Marnett // *J. Biol. Chem.* — 2000. — Vol. 275. — P. 11784-11790.
13. *Nomenclature* for human CYP2D6 alleles / A. K. Daly, J. Brockmuller, F. Broly [et al.] // *Pharmacogenetics*. — 1996. — Vol. 6. — P. 193-201.
14. *Molecular* basis for rational prescribing in ultra-rapid hydroxylators of debrisoquine / L. Bertilsson, M. Dahl, F. Sjoquist [et al.] // *Lancet*. — 1993. — Vol. 341. — P. 341-363.
15. *Чернов Ю. Н.* Метаболизм лекарственных средств: индивидуальные генетически детерминированные особенности / Ю. Н. Чернов, И. Роотс, Е. А. Чайкович // *В мире лекарств*. — 2001. — № 1. — С. 24-31.
16. *Influence* of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose and metabolic clearance / M. G. Scordo, V. Pengo, E. Spina [et al.] // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 2002. — Vol. 72. — P. 702-710.
17. *Genetic* association between sensitivity to warfarin and expression of CYP2C9*3 / D. J. Steward, R. L. Haining, K. R. Henne [et al.] // *Pharmacogenetics*. — 1997. — Vol. 7. — P. 361-367.
18. *Interindividual* variability in ibuprofen pharmacokinetics is related to integration of cytochrome P450 2 C9 amino acid polymorphism / M. Garcia-Martin, F. Martinez, A. Tabares [et al.] // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 2004. — Vol. 76. — P. 119-127.
19. *Pharmacokinetics* and cholesterol-lowering activity of (-)-3S, 5R-fluvastatin and (+)-3R, 5S-fluvastatin in healthy volunteers / J. Kirchheiner, D. Kudlicz, C. Meisel [et al.] // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 2003. — Vol. 74 — P. 437-442.
20. *17β-Estradiol* hydroxylation catalysed by cytochrome P4501B1 / C. L. Hayes, D. C. Spink, B. L. Spink [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1997. — Vol. 93. — P. 9776-9781.
21. *Sequence* analysis and homology modeling suggest that primary congenital glaucoma on 2p21 results from mutations disrupting either the hinge region or the conserved core structures of cytochrome P4501B1 / I. Stoilov, A. N. Akarsu, I. Alozie [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* — 1998. — Vol. 62. — P. 573-584.

22. *Molecular* mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in human / M. Blum, A. Demierre, D. M. Grant [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1991. — Vol. 88. — P. 5237-5241.
23. *Human* acetyltransferase polymorphisms / D. M. Grant, N. C. Hushes, S. A. Janezic [et al.] // Mutat. Res. — 1997. — Vol. 1/2. — P. 61-70.
24. *Prediction* of phenotype for acetylation and for debrisoquine hydroxylation by DNA-test in healthy human volunteers / F. J. Graf, F. Broly, F. Hoffman [et al.] // Europ. J. Clin. Pharmacol. — 1992. — Vol. 4. — P. 399-403.
25. *Factors* in hydrazine formation from isoniazid paediatric and adult tuberculosis patients / W. L. Gent, H. I. Seifart, D. P. Parkin [et al.] // Europ. J. Clin. Pharmacol. — 1992. — Vol. 2. — P. 131-136.
26. *Lemke L. E.* Acetylation and its role in the mutagenicity of the antihypertensive agent hydralazine / L. E. Lemke, C. A. McQueen // Drug. Metab. Dispos. — 1995. — Vol. 5. — P. 559-565.
27. *Martelli A.* In vitro and in vivo testing of hydralazine genotoxicity / A. Martelli, A. Allavena, G. D. Campart // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1995. — Vol. 1. — P. 113-120.
28. *Inhibition* of N-acetylation of procainamide and renal clearance of N-acetylprocainamide by p-aminobenzoic acid in humans / J. E. Tisdale, M. I. Rudis, I. D. Padhi [et al.] // J. Clin. Pharmacol. — 1995. — Vol. 9. — P. 902-910.
29. *Walubo A.* Phenytoin toxicity due to concomitant antituberculosis therapy / A. Walubo, A. Aboo // Soc. Afr. Med. J. — 1995. — Vol. 11. — P. 1175-1176.
30. *Vessell E. S.* Genetic and environmental factors affecting ethanol metabolism in man / E. S. Vessell, J. G. Page, G. T. Passanti // Clin. Pharmacol. Ther. — 1971. — Vol. 12. — P. 192-201.
31. *Human* alcohol dehydrogenase: structural differences between the b and g subunits suggest parallel duplication in isozyme evolutions and predominant expression of separate gene descendants in livers of different mammals / R. Bühler, J. Hempel, J. P. von Warburg, H. Jörnvall // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1984. — Vol. 81. — P. 6320-6324.
32. *Goedde H. W.* Pharmacogenetics of aldehyde dehydrogenase (ALDH) / H. W. Goedde, D. P. Argawal // Pharmacol. Ther. — 1990. — Vol. 45. — P. 345-371.
33. *Pharmacogenetics* // Report of a WHO scientific group; WHO technical report series, N 524. — Geneva, 1973. — 43 p.
34. *Comparative* developmental toxicity and metabolism of nitrazepam in rats and mice / S. Takeno, Y. Hirano, A. Kitamira, T. Sakai // Toxicol. Appl. Pharmacol. — 1993. — Vol. 2. — P. 233-238.
35. *Сойфер В. Н.* Международный проект «Геном человека» / В. Н. Сойфер // Соросовский образовательный журнал. — 1988. — № 12. — С. 4-11.
36. *Blanchard J. S.* Molecular mechanisms of drug resistance in Mtb / J. S. Blanchard // Ann. Rev. Biochem. — 1996. — Vol. 65. — P. 215-239.
37. *Global* Trends in Resistance to Anti-tuberculosis Drugs / M. A. Espinal, A. Laszlo, L. Simonsen [et al.] // N. Eng. J. Med. — 2001. — Vol. 344. — P. 1294-1300.
38. *Мониторинг* лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза в России за 1979–1998 гг. / И. Р. Дорожкова, С. А. Попов, И. М. Медведева [и др.] // Проблемы туберкулеза. — 2000. — № 5. — С. 19-22.
39. *Rimfamping* and multidrug-resistant tuberculosis in Russia civilians and prison inmates: dominance of the Beijing starin family / F. A. Drobniewsky, Y. M. Balabanova, M. Ruddey [et al.] // Emerg. Infect. Dis. — 2002. — Vol. 8. — P. 1320-1326.
40. *Бажора Ю. И.* Идентификация потенциально патогенных микобактерий методом RAPD-анализа / Ю. И. Бажора, В. В. Николаевский // Буковинський медичний вісник. — 2002. — № 1. — С. 157-162.
41. *Ситуація* з полірезистентного та мультикомплексного туберкульозу в

м. Києві / О. А. Журило, Л. В. Турченко, М. Т. Клименко [та ін.] // Український пульмонологічний журнал. — 2002. — № 3. — С. 36-39.

42. *Levy S. B.* The challenge of antibiotic resistance / S. B. Levy // *Sci. Am.* — 1998. — Vol. 275. — P. 46-53.

43. *Поширеність* медикаментозної резистентності у збудника туберкульозу та інформативність її генотипного визначення / В. Й. Кресюн, К. О. Антоненко, О. К. Лобанов, А. В. Штанько // *Досягнення біології та медицини.* — 2007. — № 2. — С. 74-80.

44. *Антоненко К. О.* Визначення та поширеність мутацій, що пов'язані з медикаментозною резистентністю в генотипі збудника туберкульозу / К. О. Антоненко, В. Й. Кресюн // *Вісник проблем біології та медицини.* — 2007. — Вип. 4. — С. 124-132.

45. *Кресюн В. Й.* Вивчення резистентності збудника туберкульозу до протитуберкульозних препаратів I–II ряду // *Клінічна фармація.* — 2008. — № 3. — С. 19-24.

46. *Wolf C. R.* Pharmacogenetics / C. R. Wolf, G. Smith // *Br. Med. Bull.* — 1999. — Vol. 55, N 2. — P. 366-386.

Розділ 11. Молекулярна епідеміологія довкілля

ENVIRONMENTAL MOLECULAR EPIDEMIOLOGY

There are presented the molecular-genetic principles of the “human-environment” system interaction. The possible routes of exposure to various environmental factors on the human body are presented at the molecular level. There is highlighted the role of molecular-epidemiological researches for the development of preventive measures directed to the maximum decrease of interaction between the individual genotype and environmental factors.

Термін «епідеміологія» останнім часом почали застосовувати не тільки щодо інфекційних захворювань, а також для хвороб, що виникають під впливом інших факторів навколишнього середовища. Фахівці вживають терміни «епідеміологія професійної патології» (occupational epidemiology), «епідеміологія довкілля» (environmental epidemiology), або, як іноді її називають, «екологічна епідеміологія» [1–3]. Епідеміологія не є новою дисципліною, однак в останні десятиріччя її теоретичний розвиток і розробка нових методів дослідження відкрили додаткові можливості для цієї науки, викликали інтерес до нових напрямів її застосування. Найчастіше епідеміологічні дослідження проводяться для виявлення пов'язаних із навколишнім середовищем причин захворювань, при цьому використовуються методи вивчення закономірностей поширення неінфекційних хвороб серед населення, засновані на застосуванні статистичних показників, тобто епідеміологічного методу [1].

Епідеміологічний метод, використовуваний для дослідження взаємодії «людина-довкілля», має довгу історію [4–7]. Втім, розвиток епідеміології довкілля був пов'язаний із дослідженням монофакторних захворювань, насамперед гострих і хронічних інтоксикацій, мікроелементозів і професійних хвороб [4]. Останніми роками питанням оцінки змін стану здоров'я під впливом чинників довкілля в усьому світі при-

діляється набагато більше уваги, ніж кілька десятиріч тому [5–7].

Ще у 80–90 роках минулого сторіччя провідні вітчизняні фахівці з питань гігієни довкілля (Є. Г. Гончарук, Г. І. Сидоренко, М. Ф. Измеров, Ю. І. Кундієв, А. М. Сердюк, Ю. В. Вороненко, Я. Й. Звіняцьківський, В. Г. Бардов, К. А. Буштуєва) запропонували підхід до непрямої оцінки стану навколишнього середовища шляхом оцінки здоров'я населення [8–16]. Передумовами для цього були значна питома вага чинників довкілля у формуванні здоров'я, неможливість гігієнічного нормування всіх існуючих чинників довкілля та методологічні складнощі перегляду існуючих гігієнічних нормативів.

Сьогодні відомо, що питома вага навколишнього середовища у формуванні здоров'я населення становить приблизно 20 % [17; 18]. Крім того, фахівці розробили чимало гігієнічних нормативів, але не всі чинники можна виміряти і відповідно нормувати, не завжди вдається дотримуватися цих нормативів [19]. Нарешті, серед принципів гігієнічного нормування є принцип пороговості та принцип відносності гранично допустимих концентрацій (ГДК), тобто будь-який затверджений гігієнічний норматив не є абсолютною істиною і може бути переглянутим, що ускладнює інтерпретацію даних рутинного моніторингу стану об'єктів довкілля [20].

Втім, основний поступ у вивченні гігієни довкілля був зроблений закордонними фахівцями [1; 7; 21–24]. Ще 50 років тому Peters з колегами запропонував концепцію «біохімічного розладу» та впровадив її у токсикологічну практику [21]. Ця концепція впливає з робіт Garod (1923), який описав значущість дослідження біохімічних процесів для визначення вроджених або набутих «помилок метаболізму» [22]. Та справжнього прогресу у вивченні мінімальних змін перебігу біохімічних процесів у організмі було досягнуто в останні 20 років, коли арсенал методів фахівців з епідеміології поповнився молекулярно-генетичними технологіями [1; 2; 23; 24]. Насамперед, це стосується розвитку такого напрямку, як молекулярна епідеміологія раку, який було започатковано роботами Perera і Weinstein (1982) [23].

Сучасна епідеміологія у світі займається не тільки проблемами інфекційних захворювань і контролем їх поширення [1]. Сьогодні нагальними є проблеми впливу антропогенно преформованого довкілля на індивідуальне та популяційне здоров'я, а також розробка науково обґрунтованих стратегій прогнозування, ранньої діагностики і профілактики захворювань, обумовлених несприятливими впливами чинників довкілля [2].

Слід наголосити, що категорія «здоров'я» є складним комплексним поняттям, яке однозначно, за одним показником характеризувати неможливо. З одного боку, це поняття методологічне, філософське [25], з другого — воно повинно бути практичним, використовуваним у повсякденній діяльності медичного працівника [26; 27].

Саме відсутність конструктивного, універсального визначення «здоров'я» завдає чималих труднощів та призводить до значної невизначеності результатів наукових досліджень, пов'язаних з оцінкою впливу різних чинників довкілля на здоров'я людей [28–30]. Існуючі визначення, у тому числі ті, що наводяться в преамбулі статуту ВООЗ: «Здоров'я — стан повного фізичного, душевного та соціального благополуччя, а не тільки відсутність хвороб і фізичних дефектів» — та інші визначення

не зовсім конструктивні, тому що у більшості випадків здоров'я розуміють як відсутність хвороби. Крім цього, поняття соціального благополуччя суб'єктивне, а соціальну повноцінність людини не завжди можна визначити (тим більше кількісними критеріями) [31].

Тому надзвичайно великого значення набуває використання так званих біологічних маркерів впливу довкілля на організм. Найдавнішими з них, вочевидь, є діагностичні критерії інфікування, наприклад HbsAg, які широко використовуються в сероепідеміологічних дослідженнях. Імунологічні маркери середовищних впливів не втратили своєї перспективності і сьогодні. Так, у роботах останнього десятиріччя розглядається можливість використання імуноферментного та радіоімунного методів для визначення ушкоджень ДНК при впливі ксенобіотиків (тютюнового диму, хіміотерапевтичних агентів і промислових отрут) [32].

При визначенні терміну «епідеміологія довкілля» фахівці нерідко стикаються зі складнощами [33]. У вітчизняній літературі більш вживаним є поняття «гігієна довкілля», втім, у цьому визначенні основний акцент робиться на стані об'єктів довкілля та заходах моніторингу рівня еколого-гігієнічної безпеки [34–38]. Епідеміологічний метод при такому підході є другим, і необхідність у тонких, високочутливих і високоспецифічних методах дослідження штучно обмежується. Натомість, «епідеміологія довкілля» є більш широким поняттям [33]. Відповідно до загальноприйнятого визначення, епідеміологія довкілля (NRC, 1991) вивчає вплив на здоров'я людини фізичних, біологічних і хімічних чинників довкілля [39]. Шляхом оцінки специфічних популяційних груп і громад, які підлягають впливу різних чинників довкілля, епідеміологія довкілля з'ясовує взаємозв'язки між фізичними, біологічними, хімічними факторами та здоров'ям людини [39; 40].

У 1987 р. ВООЗ було створено глобальну мережу з епідеміології довкілля для вивчення впливу на здоров'я людей небезпечних чинників довкілля та розробки техно-

логії боротьби із забрудненням навколишнього середовища, а також управління та планування стану довкілля [41]. Ця мережа має підвищувати національний потенціал країн, що розвиваються у плані охорони довкілля шляхом покращання просвіти, навчання та прикладних досліджень у галузі епідеміології довкілля.

Один із пунктів Європейської хартії з довкілля та охорони здоров'я містить таке положення: «Токсикологія довкілля і епідеміологія довкілля є ключовими методами дослідження у галузі гігієни довкілля та повинні набути подальшого розвитку як окремі дисципліни з подальшим зміцненням цих напрямів у межах регіону» [42].

При розгляді проблеми використання біомаркерів впливів чинників довкілля виникає кілька методологічних проблем [43–46]. По-перше, нерідко вплив чинника є дискретним, а тривалість експозиції є недостатньою для виникнення класичних випадків хвороби. Наприклад, при інтоксикації свинцем класична сидероахрестична анемія Франка виникає лише при досить високих концентраціях свинцю у внутрішньому середовищі (близько 85 мкг/дл) [47]. Інші кардинальні ознаки сатурнізму також виникають при відносно високих рівнях, тож для потреб ранньої діагностики, а тим більше скринінгу має бути використаний метод, який водночас є чутливим і достатньо специфічним [48]. Для сатурнізму таким методом є визначення концентрації свинцю у сироватці крові або сечі, а також екскреції δ -амінолевулінової кислоти з сечею [47; 48].

Одним із найдавніших опублікованих досліджень з епідеміології довкілля є робота Baker (1767) «Ендемічні коліки в Девонширі» [49]. Протягом півстоліття лікарі звертали увагу на той факт, що ті особи, які пили темний сидр у Девонширі, часто серйозно занедужували з виникненням судом, причому захворювання іноді закінчувалося смертю [50]. Бейкер відзначив, що споживачі сидру в інших місцях країни пили його у великих кількостях без яких-небудь наслідків для себе. Тому він дійшов висновку, що «причину цієї коліки не слід шукати у чистому сидрі, а в деякій, або

усвідомленій, або випадковій зміні його складу». Вивчення апаратів, що застосовувалися в різних графствах, показало, що у пресах для виготовлення сидру в Девонширі дуже часто використовувався свинець, що не застосовувався в інших місцях.

Бейкер протестував зразки сидру, отримані в Девонширі та в інших графствах, змішуючи їх із сіркою [49; 50]. У зразках із Девонширу осаджувався свинець, чого не було в інших зразках. Епідеміологічний метод дозволив виявити регіональні розходження у захворюваності; були ідентифіковані необхідні умови для виникнення захворювання (сидр), але його наявність була також відзначена в регіонах із низькою захворюваністю; були проаналізовані умови впливу для того, щоб виявити підозрілу причину на підставі симптомів, відомих із клінічних спостережень за працівниками свинцевої промисловості, і було встановлено, що вони аналогічні симптомам, виявленим у споживачів сидру з Девонширу. Нарешті, наявність речовини була експериментально підтверджена дослідником у вибірках із графств із високою поширеністю захворювання, але ця речовина не була виявлена у графствах з низькою поширеністю захворювання. Сучасні дослідження в екологічній епідеміології рідко настільки успішні, оскільки менше відомо про різні реагенти, що нас оточують, і частково в зв'язку з тим, що негативні ефекти для здоров'я є менш маніфестними і можуть мати значно більший період латентного перебігу захворювання або передхвороби.

Під навколишнім середовищем, вплив якого на здоров'я людини вивчає епідеміологія довкілля, ми розуміємо фактори, що є зовнішніми і не є необхідними для нормального функціонування людини, але які змінюють характеристики здоров'я і за певних умов можуть викликати захворювання [16; 51]. Тому навколишнє середовище включає фізичні, хімічні та біологічні агенти, а також соціальні, політичні, культурні й інженерні чи архітектурні фактори, що впливають на контакт людини із зовнішнім світом. На початку свого становлення епідеміологія довкілля фокусувалася, в основному, на біологічних агентах і таких фак-

торах, як система водозабору, каналізація і гігієна харчування. Поява централізованих систем водопостачання та впровадження ефективних технологічних систем кондиціонування якості питної води, будівництво розгалуженої каналізаційної системи і прийняття законів, що регулюють обробку їжі, були тими екологічними заходами, що значно знижували захворюваність і смертність від інфекційних хвороб. У багатьох країнах, що розвиваються, їх необхідність все ще залишається найважливішим завданням [52].

Останнім часом увага екологічної епідеміології повернута, в основному, до хімічних і фізичних агентів (леткі органічні сполуки, важкі метали, пестициди і радіація) [53–55]. Джерелами забруднення можуть бути індустриальні викиди, автомобілі, гормони, що додаються в їжу тварин, залишки пестицидів у їжі та залишки цих речовин, що можуть забруднювати резервуари питної води, хімічні викиди під час виробництва і транспортування токсичних або канцерогенних речовин, небезпечні відходи, радон із природних геологічних джерел і токсичні мікроелементи в об'єктах довіклля, засоби побутової хімії, косметичні засоби тощо [8–16; 21; 56; 57]. Епідеміологія довіклля також вивчає характеристики захворювань у популяціях, що потрапили до зони дії катастроф, як-от: повінь, землетрус, військові дії або інші надзвичайні ситуації [58].

Завдяки акценту на фізичних і хімічних агентах, існують досить чіткі зв'язки між епідеміологією довіклля і епідеміологією професійних захворювань [59–62]. Наприклад, визначення високої частоти респіраторних захворювань серед шахтарів й інших професійних груп, повітря робочої зони яких сильно забруднене пилом, привело до ідеї про вплив забруднення повітря на здоров'я в містах [59]. Водночас негативні ефекти, які спостерігалися в групах з дуже високою інтенсивністю впливу, наприклад, на робочому місці, не виключали можливості аналогічних ефектів за більш низької концентрації в популяції, що викликала занепокоєння і громадськості, і вчених, які працюють у системі охорони здоров'я.

Автори деяких досліджень епідеміології довіклля намагаються охарактеризувати дію відомих факторів на здоров'я [53; 63]. Однак часто спостерігається зміна захворюваності з невідомих причин, і фахівець з епідеміології довіклля намагається знайти агент, відповідальний за це захворювання. У будь-якому разі визначеність результатів чітко пов'язана з якістю оцінки впливу. У першому випадку знання того, що існує якийсь фактор, який викликає це захворювання, є недостатнім для прийняття практичних рішень до того моменту, поки дослідник не зможе з мінімальним рівнем помилки ідентифікувати індивідуумів, які підлягали впливу цього фактора або уникнули його. Докази можуть бути посилені, якщо ми розрізнятимемо осіб, які одержали значний і незначний вплив.

Доказовість будь-яких висновків є необхідною умовою впливу факторів середовища. Тому для епідеміології довіклля дуже важливим є не тільки якісна, але й кількісна оцінка ризику [64; 65]. Інструментами оцінки впливу у практиці епідеміології довіклля є:

- інтерв'ю, опитувальники та структуровані щоденники;
- вимірювання у зовнішньому середовищі (макрорівень) на підставі існуючих даних або при проведенні епідеміологічного дослідження (наприклад, концентрації побічних продуктів хлорування води, вміст ксенобіотиків у харчовій продукції, рівень забруднення атмосферного повітря);
- концентрації небезпечних речовин, що визначаються у безпосередньому (мікрорівень) оточенні людини (наприклад, чадний газ або радон у повітрі закритих приміщень);
- індивідуальні дози (використання індивідуального моніторування);
- вимірювання концентрації або рівня активності певних маркерних сполук (наприклад свинцю в крові), або їх метаболітів (диметиларсенату в сечі після впливу миш'яку);
- використання маркерів фізіологічного ефекту (наприклад, продуктів взаємодії з білками, що утворюються при потрапленні в організм бета-нафтиламінів із сигаретного диму).

Загалом біологічні маркери, які використовуються для потреб моніторингу в епідеміології довкілля, можна класифікувати як маркери чутливості, дози та ефекту (USNIENS, 1984) [66]. Під маркерами чутливості розуміють індикатори, які відображають імовірність виникнення захворювання при впливах певних чинників довкілля достатньої інтенсивності (тривалості). Маркерами дози називають біологічні показники, які віддзеркалюють поглинену дозу та використовуються як незалежні варіанти у статистичних розрахунках. Маркерами відповіді, або ефекту, є біологічні індикатори наявності патологічного процесу або суттєвого зсуву гомеостазу, який спричинений певним фактором середовища; у статистичних розрахунках вони використовуються як залежні варіанти.

Як маркери чутливості можуть бути використані і протеомічні, і генетичні константи [67–84]. Найбільш перспективним є використання генетичних факторів, які дозволяють проводити предиктивний моніторинг на підставі дослідження мутацій, що відповідають за порушення механізмів захисту, відновлення або адаптації до умов довкілля.

Визначення структури подвійної спіралі ДНК послужило поштовхом для проведення найважливіших фундаментальних досліджень, присвячених вивченню процесів реплікації, транскрипції, синтезу білка, природи генетичного коду, а також причин, що викликають мутації [85]. Разом із тим, вивчення факторів, що призводять до спадкових змін, проводилося ще задовго до відкриття структури ДНК. Свого часу Muller (1927) продемонстрував індукцію наслідуваних мутацій у *Drosophila melanogaster* під впливом рентгенівського випромінювання, за що отримав у 1946 р. Нобелівську премію з фізіології і медицини [86]. Значно пізніше Harshie і Chaise (1952) остаточно переконали науковий світ у тому, що гени знаходяться саме в ДНК, а Уотсон і Крік запропонували модель структури ДНК [87; 88]. Ці, без перебільшення, революційні відкриття, що дозволили описати молекулярні механізми взаємодій токсичних агентів і ДНК, пояснити виникнення

мутацій і цитотоксичних ефектів, послужили науковою основою вивчення мутагенезу і становлення нового розділу сучасної токсикології — генетичної токсикології, яку більшість дослідників вважає розділом епідеміології довкілля [1; 89; 90].

Поступово стало очевидним, що всі організми мають гени, які відповідають за продукцію спеціальних білків, основна функція яких — запобігти хімічним чи фізичним ушкодженням ДНК або виправити їх [89]. Така активність, покликана захистити клітину від мутацій і смерті, спричинених хімічними агентами, що ушкоджують ДНК, є основним предметом спричинених генетичної токсикології, розвиток якої пішов за двома напрямками. Перший напрям пов'язаний із вивченням молекулярних процесів, що приводять до індукції ушкодження ДНК і проявів токсичних ефектів. Другий — із рішенням більш загальних питань про структуру та функцію генів, що впливають на клітинну чутливість до дії токсичних агентів. Різниця між зазначеними двома напрямками полягає у тому, що в першому випадку токсичність вивчається як результат генетичного ушкодження, а в другому досліджується участь генів у реалізації клітинної відповіді на вплив шкідливих факторів навколишнього середовища. Обидва напрями, у свою чергу, розвинулися в нову науку, що дістала назву «токсикогеноміка» [90]. Її появу в сучасних медико-біологічних дослідженнях можна вважати одним із досягнень біотехнології ХХ ст.

На думку багатьох фахівців, токсикогеноміка є однією з пріоритетних галузей цих досліджень, а незабаром буде відігравати важливу роль у рішенні питань охорони навколишнього середовища та здоров'я людей, оскільки головний її напрям — вивчення взаємодії генетичного апарату живих організмів із навколишнім середовищем, аналіз відповіді з боку геному на зовнішні впливи і впливи токсикантів [91].

Експериментальне вивчення генотоксичних ефектів впливу хімічних сполук на організм людини є обов'язковим елементом токсикологічної оцінки нових речовин. Воно необхідне також для уже відомих

хімічних сполук, якщо існують підозри про можливий розвиток специфічних ефектів у віддаленому терміні або якщо з ними контактують чималі контингенти людей, проте немає надійних даних про безпеку щодо детектованих рівнів їх вмісту при певній тривалості експозиції у довкіллі. Сьогодні накопичено значний досвід виявлення й оцінки генотоксичних властивостей ксенобіотиків, у тому числі стосовно питань гігієнічного нормування та біологічного моніторингу [92].

Профілактичні заходи для речовин, що потрапляють у місця проживання людини, розробляються на основі дослідів на лабораторних тваринах. Однак вибір універсального виду тварин для прогнозування віддалених ефектів для людини є проблемою. Токсикогеноміка дозволяє проводити вивчення геному та глобальної експресії генів у токсикологічному аспекті *in vitro* замість використання тварин в експерименті [93].

Завдяки повній розшифровці геному людини епідеміологія довкілля та токсикогеноміка дістали унікальний інструмент для встановлення ролі будь-якого гена в реакції організму на шкідливі впливи та захисту від таких впливів агентів довкілля [88; 94]. Усі хвороби людини тим чи іншим чином залежать від геному. Одна група захворювань, власне спадкових, є результатом прояву дефекту в структурі самого гена, а інша група — наслідком порушення регуляції експресії генів, тобто нормальний ген без структурних дефектів у результаті впливу на нього шкідливих агентів навколишнього середовища (токсикантів) починає функціонувати ненормально, порушується регуляція його експресії [95]. Токсикогеномічні підходи передбачають дослідження експресії повного набору генів для вивчення взаємозв'язку між зовнішнім впливом на організм і хворобою, для розуміння взаємодії «ген — довкілля» та її впливу на здоров'я людини [91; 96].

Слід зазначити, що дослідження маркерів чутливості, як правило, є невід'ємним від вивчення ефектів впливу несприятливих факторів зовнішнього середовища. Більше того, як правило, ці дослідження

потребують широкого методологічного арсеналу і знаходяться на стику різних спеціальностей. Це пояснює ту обставину, що із розвитком молекулярно-генетичних технологій, впровадженням їх у практику епідеміології довкілля відбулося становлення таких перспективних наукових напрямів, як фармакогенетика й екогенетика [97].

Маркери дози є непрямими індикаторами дійсної дози. Необхідність їх використання пов'язана з тією обставиною, що часто механізм дії чинника довкілля є невідомим або недостатньо вивченим, або окремі ланки шкідливого впливу недоступні для дослідження [98]. Наприклад, вміст свинцю у крові або рівень його екскреції з сечею лише приблизно відображає кількість свинцю, яка надійшла до організму і була акумульована паренхіматозними органами та трабекулами кісткової тканини [47]. До того ж маркери дози дають уявлення про миттєві концентрації, не відбиваючи токсикодинамічні властивості хімічного агента. Для деяких чинників довкілля визначення маркерів дози є проблематичним [99]. Це стосується, зокрема, впливу іонізуючої радіації, для якої характерна велика кількість біологічних ефектів, що не завжди є дозоспецифічними [99; 100].

Маркери ефекту можуть бути використані для різних цілей. По-перше, вони дають змогу визначити біологічну реакцію на рівні певного фізіологічного механізму, який не завжди є центральним у патогенезі ушкодження, що розвивається у відповідь на вплив шкідливого фактора, і відповідно не є найбільш чутливим і специфічним для його ефекту. По-друге, маркери ефекту дозволяють констатувати наявність або відсутність патологічного процесу. Нарешті, вони можуть використовуватися для непрямой оцінки патофізіологічних змін, які відбуваються у тканинах і системах організму, малодоступних для вивчення (наприклад нервової або репродуктивної) [101–105]. Так, за станом метаболізму у тромбоцитах можна судити про подібні зміни у нейронах, а цитогенетичні зміни лімфоцитів циркулюючого пулу є відобра-

женням паралельних змін хромосомного апарату стовбурових клітин [101; 102]. Для оцінки біологічних ефектів можуть з успіхом використовуватися «провокаційні» проби. Наприклад, за кліренсом антипирину можна судити про метаболічні порушення в печінці [103].

Іноді чітко класифікувати біологічний маркер неможливо. Так, маркер дози для якогося патологічного процесу (наприклад, злоякісне новоутворення) є одночасно маркером ефекту для впливу мутагену (мутація) [98]. Вміст протопорфіринів в еритроцитах свідчить про поглинену дозу свинцю, але водночас є маркером ефекту впливу свинцю на ферментативні реакції циклу Шеміна [48]. Іноді маркери поєднують в собі риси маркера чутливості і маркера ефекту. Це, зокрема, стосується δ -амінолевулінацетатдегідратази, зниження активності якої відбувається на ранніх стадіях інтоксикації свинцем та водночас є предиктором тяжкого перебігу сатурнізму [47; 48; 104].

Вплив екзогенних хімічних речовин на людину, як відомо, здійснюється протягом усього життя через повітря, воду, їжу, ґрунт [8–16]. Забруднення навколишнього середовища різними хімікатами за останні десятиріччя розглядається як одна з основних причин погіршення стану здоров'я населення. Первинною метою токсикологічних досліджень — експериментальних і натурних — є оцінка впливу хімічних факторів навколишнього середовища на стан здоров'я людини і тварин [105]. При цьому фахівці з клінічної токсикології традиційно визначають як окремі фізичні параметри (масу тіла, органа, артеріальний тиск, рівень активності), так і гістологічні характеристики зразків тканин (гістопатологія), хімічні показники крові для встановлення наслідків шкідливих впливів. Отримані дані є важливими діагностичними показниками, але вони недостатньо інформативні для розуміння молекулярних механізмів токсичності, патогенезу розвитку захворювання. Традиційні токсикологічні методи також звичайно недостатньо чутливі для встановлення низькорівневої токсичності (проблема впливу факторів

малої інтенсивності) чи ранніх доклінічних етапів захворювання. Сьогодні вчені мають недостатній обсяг інформації про те, що відбувається на генетичному рівні у проміжок часу між впливом на організм токсичної речовини і наслідками цього впливу, наприклад, розвитком захворювання [106].

Саме тому перед епідеміологією довілля постає безліч таких складних завдань, як ідентифікація загальних варіацій ДНК, особливо поліморфізму одиничних нуклеотидів у складі генів, що впливають на клітинні відповіді на токсичні зовнішні агенти; установлення структури і мінливості генів, пов'язаних із захворюваннями, індукованими несприятливими факторами навколишнього середовища; прогнозування можливої відповіді організму на вплив токсичних речовин. Однак згодом стало очевидним, що просто ідентифікувати зміни у генах не досить. Необхідно вивчати експресію генів, що змінюють свою активність залежно від зовнішніх впливів, процеси модифікації продуктів експресії у клітинах, їх зміни в часі під впливом несприятливих факторів навколишнього середовища. Таким чином, в останні роки відбувається злиття епідеміології довілля та молекулярної епідеміології. Деякі фахівці називають таке методологічне поєднання молекулярною епідеміологією довілля [107; 108].

Використання молекулярно-генетичних технологій в епідеміологічних дослідженнях дозволяє одержати дані, що раніше були недоступними [109]. У зв'язку з цим виникає необхідність вивчення чутливості людини до хвороб, детермінованих різноманітними генетичними особливостями. Молекулярна епідеміологія довілля вивчає гени і їхні продукти, що відіграють важливу роль в адаптаційній відповіді організму на токсичні впливи. Останнім часом з молекулярної епідеміології довілля розвинулася токсикогеноміка, яка перетворилася на самостійну наукову дисципліну і поєднує генетику, транскриптоміку (експресія мРНК на геномному рівні) [110], протеоміку (експресія білків на рівні клітин і тканин) [111], метаболоміку (де-

тальний опис метаболітів) [112], біоінформатику і токсикологію у спробі зрозуміти роль взаємодії «ген — навколишнє середовище» не тільки в етіології, але і в патогенезі захворювання, що дуже важливо [91; 93; 95; 113–117]. Токсикогеномний аналіз є потужним інструментом для моніторингу експресії тисяч генів одночасно. Вивчення транскриптому приведе до ідентифікації мінімального набору генів і білків, що можуть бути біомаркерами специфічних токсичних ефектів.

Оцінювати токсичність речовин і патогенез захворювань на молекулярному рівні з метою досягнення розуміння механізмів несприятливих впливів факторів зовнішнього середовища на людину та запобігання їм дозволяють нещодавно розроблені нові методи і технології. Одним із найважливіших інструментів, використовуваних у таких дослідженнях, є ДНК-мікрочипи (*DNA microarrays*) [118]. Ця технологія дозволяє здійснювати одночасну оцінку транскрипції тисяч генів, використовуючи мікрочипи, що містять тисячі зразків комплементарної ДНК, іммобілізованої на специфічному носії. Розвиток цієї багато в чому революційної технології потребує пошуку можливостей синтезу й ідентифікації великих кількостей зразків ДНК, що відповідають тисячам різних генів. Застосування цієї технології також залежить від доступності інформації про послідовності ДНК у відкритих базах даних (наприклад OMIM). Наслідком зовнішнього впливу на генетичний апарат можуть також виявитися зміни у структурі та функціях протеому (усієї сукупності білків організму), що є об'єктом якісного і кількісного вивчення протеомікою.

Можливо, що протеом людини ніколи не буде досліджено цілком у такому аспекті, в якому був розшифрований геном [111]. Геном досить статичний, протеом же більш динамічний, він постійно змінюється у певних межах не тільки посттрансляційних модифікацій, але й залежно від стану організму та умов його функціонування. В основі протеоміки — виділення й ідентифікація білків [111]. Робота в цьому напрямі проводилася із середини 70-х років

XX ст., і перший великий технологічний прорив відбувся в 1975 р., коли у практиці досліджень почали застосовувати двовимірний гель-електрофорез. Цей метод дозволяє розділяти складні суміші білків у поліакриламідному гелі за масою і зарядом, однак він є малоефективним для ідентифікації білків. Друге значне досягнення у протеоміці — це поява у 80-х роках особливих мас-спектрометричних методів для ідентифікації білків і визначення їх амінокислотної послідовності [112].

Процес експресії генів служить свого роду шаблоном для синтезу білкових молекул, що регулюють функціональну активність клітини. Сьогодні певною мірою відомі й зрозумілі нормальна генна послідовність, структура трансльованих білків і рівні їх активності. Результати протеомних досліджень дають надзвичайно важливу інформацію про фізіологічні функції на субклітинному, клітинному, органному і системному рівнях, що відкриває нові обрії для розуміння молекулярних механізмів дії ліків, токсикантів і розвитку захворювань, ефектів впливів на організм факторів навколишнього середовища [111]. І хоча повну карту протеому людини, можливо, ніколи не буде отримано, є надія, що протеїнові карти окремих людських органів, залоз і рідин все ж таки будуть досліджені.

Протеоміка містить у собі багато різних субдисциплін, кожна зі своїм власним підходом і внеском у дослідження протеому [111; 112; 119; 120]. Завдання експресійної (описової) протеоміки полягає в оцінці якісних розбіжностей певних зразків, наприклад, білків здорового і хворого організмів або білків до і після певного впливу чинника довкілля [111; 119]. Функціональна протеоміка покликана аналізувати і характеризувати специфічні функції білків, включаючи різні взаємодії, роль у механізмах розвитку захворювань, їх можливе використання як біомаркерів [120]. Структурна протеоміка концентрує зусилля на картуванні структур протеїнових комплексів, що присутні в окремих клітинних органелах. Така інформація дає найцінніші відомості про архітектуру

клітин, що значною мірою впливає на клітинні функції. Основними методами, використовуваними для характеристики цих складних систем, є рентгенівська кристалографія і структурне комп'ютерне моделювання. Токсикопротеоміка використовує весь арсенал доступних методів і технологій для визначення клітинних і субклітинних механізмів відповіді організму на вплив ксенобіотиків [121]. Особливий інтерес становить розпізнавання біомаркерів екзогенних впливів (табл. 11.1).

Використання біологічних маркерів пов'язане із деякими методологічними труднощами [139]. Незважаючи на їх величезне значення для досліджень чутливості, дози або ефекту токсичних впливів, обмеженою є можливість за допомогою цих маркерів верифікувати виникнення патології, визначати необхідність застосування

засобів первинної або вторинної профілактики, що у деяких випадках ставить під сумнів ефективність використання біологічних маркерів. Найбільш ефективним є застосування їх як індикаторів чутливості, дози або ефекту при вивченні монокаузальних, відносно рідкісних гострих захворювань, для яких існують чіткі та нескладні діагностичні алгоритми і відносний ризик виникнення яких при певних впливах достатньо високий [140]. З другого боку, дослідження причинно-наслідкових зв'язків за допомогою біомаркерів щодо ризику виникнення мультифакторних найпоширеніших хронічних хвороб, які потребують проведення складного диференціювання з іншими захворюваннями, що супроводжуються подібними клінічними проявами та виникнення яких асоційовано з низькими значеннями відносного ризику, є складним

Таблиця 11.1

Розвиток молекулярної епідеміології довкілля [122–138]

Біомаркер	Вплив	Джерело інформації
Біологічного ефекту (відповіді)		
ДНК-аддукти	ПАХ ароматичні сполуки	Tang et al., 2001
Аддукти альбуміну	АФВ1	Ross et al., 1992
Аддукти гемоглобіну	АФВ1	Wang et al., 1996
	Акриламід	Gong et al., 2002
	Стирол	Hagmar et al., 2005
	1,3-бутадиєн	Vodicka et al., 2003
		Albertini et al., 2007
Доклінічного ефекту (дози)		
Хромосомні аберації	Рак легенів	Bonassi et al., 2004
	Лейкемія	Smith et al., 2005
	Інтоксикація бензолом	Holeckova et al., 2004
ГФРТ	ПАХ	Perera et al., 2002
	1,3-бутадиєн	Ammenheuser et al., 2001
Глікофорин	ПАХ	Lee et al., 2002
Експресія гена	Цисплатин	Gwosdz et al., 2005
		Bradbury et al., 2001
Генетичні маркери чутливості		
NAT2, GSTM1	Рак сечового міхура	Gracia & Dreicer, 2006
CYP1A1	Рак легенів	Vineis et al., 2003

Примітка. ПАХ — полівініламідохлориди; АФВ1 — афлотоксин В1; ГФРТ — гіпоксантингуканінфосфорибозилтрансфераза.

завданням [1; 3; 141]. Втім, саме з останньою групою захворювань нині пов'язують перспективи розвитку молекулярної епідеміології довкілля.

Мультифакторні захворювання (МФЗ) є найбільш численною і різноманітною групою хвороб, що становить понад 90 % усієї соматичної патології людини і обумовлює високі темпи росту захворюваності, смертності та інвалідизації працездатного населення в сучасних популяціях [1–5; 142; 143]. Експерти ВООЗ довели, що проведення лікувально-профілактичних заходів за традиційними алгоритмами не є достатнім для зміни ситуації, яка назріває, що призведе до колосальних економічних витрат і досить скромних результатів. Низька ефективність лікувально-профілактичних заходів пов'язана з відсутністю їх етіологічної спрямованості, оскільки недостатньо розкриті ключові механізми формування МФЗ.

Численними дослідженнями було доведено, що в основі виникнення МФЗ є складні взаємодії генетичних і середовищних факторів [142]. З розвитком молекулярно-генетичних технологій відкрилися широкі можливості для формалізації генетичного компонента схильності до МФЗ. Сьогодні накопичено чимало даних про участь різних поліморфних генів у формуванні схильності до мультифакторної патології. Однак незважаючи на досягнуті успіхи світового наукового співтовариства у вивченні геному людини та розробці методів аналізу ДНК, як і раніше, відомо про відносно невелику кількість генів, що у сукупності тільки частково пояснюють деякі ланки патогенезу МФЗ [144].

Результати досліджень асоціацій генетичних біомаркерів схильності до МФЗ свідчать про вкрай низьку їх відтворюваність у різних популяціях світу [145]. Низька продуктивність генетичних досліджень обумовлена не тільки складними міжгенними взаємодіями, генетичною гетерогенністю, вираженим клінічним поліморфізмом даного класу хвороб, що істотно утруднюють картування генів МФЗ, але і еволюційно сформованими взаємодіями «генотип-довкілля», специфічними для

кожної людської популяції. Наші дослідження вказують на наявність адаптаційних генетичних змін у населення за умов постійного впливу техногенно преформованого середовища (протягом декількох поколінь). Зокрема, серед мешканців індустриальних районів Дніпропетровської області частіше трапляються алейні варіанти генів біотрансформації ксенобіотиків, які детермінують високу стійкість до екзогенних токсичних факторів при меншій зустрічальності функціонально неповноцінних алелей генів (*CYP1A1 (A2455G (Ile462Val))*, *GSTM1 (Del)*, *GSTT1 (Del)*, *NAT2 (C481T, G590A, G857A)*, *mEPHX1 (T337C(Tyrl3His) – 3-й екзон, A415G (His39Arg) – 4-й екзон)*), ніж серед мешканців регіонів України з більш сприятливими екологічними умовами [146].

Багато авторів схильні пояснювати невдачі генетичного картування недосконалістю використовуваних молекулярних технологій і статистичних методів, однак проблема, скоріше, має біологічний характер і виникає з нерозуміння її складності у цілому [147–149].

Найчастіше у генетичних дослідженнях МФЗ нівелюються або ігноруються ефекти навколишнього середовища, що саме для даного класу хвороб мають першочергове значення [145; 147]. Важливість екологічної компоненти підтверджується швидким зростанням в останні роки частоти багатьох МФЗ у популяціях, що неможливо пояснити зміною генетичної складової за такий короткий проміжок часу з еволюційної точки зору. Накопичені численні дані про фактори ризику МФЗ, пов'язані з якістю навколишнього середовища, найчастіше суперечливі, цілком не пояснюють механізми їх патологічного впливу на організм і не дозволяють сформулювати єдину концепцію етіології розповсюджених захворювань у людини [150].

Втім, контент-аналіз наявних публікацій з проблеми дозволяє визначити кілька наукових напрямів, пріоритетних у дослідженні молекулярно-генетичних детермінант МФЗ [151–155]. Передусім це вивчення особливостей генетичної детермінації детоксикації ксенобіотиків та до-

слідження мутацій у структурних генах або генах-регуляторах, що забезпечують клітинний гомеостаз. Сьогодні методи молекулярної біології широко застосовуються для вивчення епідеміологічних проблем, дослідження особливостей змін ДНК для виявлення можливих канцерогенів і використання молекулярних маркерів для прогнозування того, які індивідууми мають найбільш високий ризик захворювання. Йдеться про можливість поєднання традиційних підходів екогієни і епідеміології докілья із найсучаснішими методами прогнозування та профілактики МФЗ [151].

Бібліометричний аналіз публікацій останніх трьох років дозволяє стверджувати, що найбільша увага дослідників останнім часом прикута до проблеми впливу ксенобіотиків на організм людини, який, на думку провідних вітчизняних і іноземних авторів, є однією з найактуальніших проблем сучасної профілактичної медицини [141; 145].

Сьогодні все більше зростає інтерес дослідників до вивчення впливів хімічного забруднення навколишнього середовища, рівень якого безупинно підвищується в економічно розвинутих країнах світу, починаючи з другої половини минулого століття, на формування розповсюджених захворювань. Нині уже відомо більше 5 млн хімічних речовин (атмосферні політанти, пестициди, фармацевтичні препарати, косметика, харчові добавки, шкідливі звички тощо), впливові яких постійно піддається людина, і для багатьох із них показаний етіологічний зв'язок із МФЗ [146].

Набуває актуальності ідентифікація в різних популяціях специфічних генів і чинників докілья, взаємодія яких формує норму реакції стійкості людини та її адаптацію до мінливого середовища проживання. У зв'язку з цим оптимальними генетичними біомаркерами для екогенетичних досліджень МФЗ є поліморфні варіанти генів ферментів біотрансформації ксенобіотиків, експресія яких, на відміну від інших класів генів, безпосередньо регулюється впливами середовищних факторів хімічної природи [147].

Відомо, що в організмі детоксикацію ксенобіотиків здійснюють спеціальні ферментні системи і мембраноасоційовані рецептори, які регулюють їх активність. Процес детоксикації зазвичай включає дві послідовні фази. Спочатку чужорідні агенти (канцерогени, ліки, промислові отрути та інші альтеруючі сполуки), що надходять в організм, активуються за допомогою ферментів сімейства цитохромів P450 або мікросомальних епоксидгідролаз (mEPOX), утворюються короткоживучі проміжні електрофільні метаболіти, що мають генотоксичні властивості (фаза 1). Потім ці проміжні метаболіти за допомогою ферментів сімейств глутатіонтрансферази (GSTM), УДФ-глюкуронілсульфотрансфераз (UDF), N-ацетилтрансфераз (NAT) перетворюються на водорозчинні нетоксичні продукти і виводяться з організму (фаза 2). Сьогодні відомо більше 300 «генів зовнішнього середовища». Для багатьох із них виявлено генетичний поліморфізм, який впливає на функціональну активність їхніх алелей [93; 137; 142; 156–161].

Незважаючи на зростаюче забруднення навколишнього середовища, високий рівень хімізації промисловості, сільського господарства і побуту, вивчення екогенетичних механізмів формування багатьох МФЗ, як і раніше, знаходиться осторонь від основного вектора наукових досліджень. Аналіз численних робіт, присвячених пошуку асоціацій різних класів генів зі схильністю до раку, показав, що більше 70 % стабільно відтворених позитивних результатів картування генів отримані завдяки вивченню поліморфізму генів ферментів біотрансформації ксенобіотиків, а це підтверджує значний внесок екогенетичної компоненти у схильність до виникнення злоякісних новоутворень. Поряд із цим, дослідження поліморфізму генів ферментів біотрансформації ксенобіотиків при розповсюджених неонкологічних захворюваннях нечисленні. Комплексна оцінка залучення поліморфних варіантів генів ферментів біотрансформації ксенобіотиків у формування мультифакторної патології неонкологічної природи в Україні дотепер не проводилася.

Дослідження генів ферментів біотрансформації ксенобіотиків свідчать про значні міжпопуляційні та міжетнічні розбіжності їх аельного поліморфізму, що віддзеркалюють своєрідність умов проживання, харчування і способу життя населення в різних регіонах світу. Втім, до останнього часу в Україні подібні дослідження не проводилися. Залишається незрозумілим, яка частка практично здорових осіб є чутливою до несприятливих середовищних впливів, і чи існують етнічні та регіональні особливості у їх розподілі в загальній популяції.

У зв'язку з цим, доцільним є проведення оцінки молекулярно-генетичних детермінант здоров'я населення, що проживає в регіонах України із різним рівнем екологічної безпеки. До цих детермінант слід зарахувати поліморфізм генів, що визначають детоксикаційні здатності відповідних ферментних систем (ферменти родини цитохромів P450, мікосомальних епоксидгідролаз (mEPOX), родини глутатіонтрансферази (GSTM), УДФ-глюкуронілсульфотрансфераз (UDF) і N-ацетилтрансфераз (NAT)) [156]. На підставі отриманих результатів можна буде визначити групи населення, в яких є найбільш ймовірним розвиток несприятливих ефектів впливу ксенобіотиків, розрахувати індивідуальні та популяційні ризики виникнення генетично детермінованої патології у цих осіб. Все це дозволить, використовуючи методи молекулярної епідеміології, розробляти ефективні методи профілактики МФЗ.

Слід зазначити, що використання біомаркерів, і зокрема генетичних маркерів чутливості, дози та ефекту, у методології епідеміології довкілля має деякі переваги. Перш за все, адекватно обраний біологічний маркер дозволяє збільшити відносний ризик виявлення патологічного процесу і, відповідно, спростити статистичну обробку. Це пов'язано з тією обставиною, що кількість маніфестних форм патології, обумовленої середовищними причинами, завжди менша, ніж кількість випадків відхилень гомеостазу або інших патологічних змін, які виявляються за допомогою біомаркерів на рівні донозологічної діагностики. По-друге, використання біологічних маркерів,

у тому числі генетичних, дозволяє скоротити термін катамнестичного спостереження, що має і суто економічне значення при плануванні великих скринінгових проєктів. Крім того, використання біомаркерів дозволяє уникнути класифікаційних помилок. Наприклад, ймовірність помилки при оцінці ефектів факторів малої інтенсивності є вельми високою. Визначення дози та ефекту за допомогою біомаркерів дозволяє зменшити статистичну похибку при проведенні моніторингу популяційного здоров'я. Нарешті, застосування біологічних маркерів дозволяє проводити аналіз складних, багатокomпонентних впливів середовища, у тому числі комбінованих і поєднаних, та на підставі одержаних закономірностей впроваджувати ефективні профілактичні стратегії.

З 1998 р. у деяких країнах Західної Європи і США функціонує «Міжнародний проєкт з дослідження генів зовнішнього середовища» [162]. На думку керівника програми Кенета Олдена, дослідження генів зовнішнього середовища у представників різних рас і етнічних груп нададуть безцінну інформацію для охорони здоров'я стосовно оцінки схильності індивідів до різних розповсюджених захворювань і будуть першим кроком до розвитку індивідуальної (предиктивної, профілактичної) медицини як одного з напрямів молекулярної медицини ХХІ ст. У зв'язку з несприятливими тенденціями динаміки здоров'я населення, для розуміння процесів адаптації до багатфакторного впливу токсичних факторів, актуальними є комплексні молекулярно-генетичні дослідження, спрямовані на пошук маркерів екологічного ризику порушень здоров'я. Оскільки неможливо охопити усі існуючі чинники довкілля, є доцільним виділити тільки провідні з них. На думку багатьох дослідників, як провідні слід використовувати фактори виробничого середовища. Крім того, актуальність і необхідність розв'язання проблеми генетичної компоненти схильності до професійних захворювань очевидна сама по собі, оскільки така патологія є соціально значущою. Результати цих досліджень можуть бути використані з метою раціонального

працевлаштування, для ефективної профілактики тяжкої професійної патології в робітників шкідливих виробництв. За останні роки фахівцями у галузі епідеміології докілька визначені основні принципи в оцінці небезпеки для людини хімічних забруднень навколишнього середовища.

У численних публікаціях з проблеми оцінки ризику впливу на здоров'я факторів навколишнього і виробничого середовища широко обговорюється проблема виявлення і використання показників, що відбивають чутливість індивіда. Як такі показники використовують біомаркери «впливу» (аддукти ДНК у різних тканинах, аддукти білка, генотоксиканти та/або їх метаболіти в крові, сечі тощо), біомаркери генетичної «експозиції» (хромосомні аберації, мутації зчеплених з Х-хромосомою комплексу генів HPRT і генів HLA) і біомаркери «чутливості», або «чутливості», до яких зараховують, зокрема, гени ферментів біотрансформації ксенобіотиків. Відомо, що при впливі шкідливих виробничих факторів захворювання виявляється не в усіх робітників. Хвороби, що проявилися, характеризуються різною нозологією, перебігом, ускладненнями і наслідками. З точки зору молекулярної епідеміології, ці розходження пояснюються індивідуальними особливостями, в основі яких лежить генетичний поліморфізм людини [142].

Доведено, що у людини існує генетичний контроль метаболізму хімічних сполук, що надходять в організм, тому залежно від особливостей свого геному різні індивіди можуть зберігати стійкість або, навпаки, виявляти підвищену чутливість до чинників довкілля. Сучасні уявлення про механізми контролю метаболізму ксенобіотиків вказують на взаємозв'язок патогенезу професійних захворювань, викликаних впливом хімічного фактора, зі здатністю організму до детоксикації токсичних речовин, що дозволяє розглядати гени біотрансформації ксенобіотиків як «біомаркери чутливості» людини до впливу факторів навколишнього середовища. Будь-які якісні чи кількісні відхилення функцій складових цієї системи незмінно призво-

дять до порушення процесів детоксикації з непередбачуваними, найчастіше шкідливими наслідками для організму [156; 157].

Велике значення для проведення досліджень взаємозв'язку різних видів патології має взаємодія між різними генами (табл. 11.2). Як видно з наведеної таблиці, найбільш вивченими сьогодні є питання канцерогенезу, в першу чергу раку легень і гострого лімфоблейкозу [163–176].

Для підвищення ефективності використання біологічних, у тому числі молекулярно-генетичних маркерів, використовують такі критерії, як вартість діагностичного методу, його інвазивність, відтворюваність, варіабельність показника, що вивчається на рівні індивідуума та популяційному рівні, залежність від часу (терміну експозиції та тривалості ефекту), валідності методу (його чутливості та специфічності) [177]. Зрештою, останніми роками все більше уваги приділяється питанням етики та дотримання прав особистості при епідеміологічних дослідженнях.

Проблема високої вартості дослідження біологічних маркерів, зокрема генетичних, часто потребує змінювати дизайн епідеміологічного дослідження. Для зменшення розмірів вибірки нерідко замість когортних досліджень проводять дослідження за дизайном «випадок-контроль». Крім того, здешевити дослідження можна завдяки зменшенню кількості персоналу, задіяного у дослідженні, та широкого впровадження автоматизованих лабораторних систем [2; 178].

При виборі методу взяття біологічного матеріалу, як правило, намагаються уникнути використання інвазивних методик. Замість взяття крові з успіхом може бути використаний букальний зскрібок або інші тканини [178; 179]. Зважаючи на те, що використання інтраскопічних технологій з метою скринінгу не є предметом дискусії у цьому розділі, ми детально не затримуємося на них, проте зазначимо, що коректний вибір діагностичного критерію є дуже важливим для успішного завершення епідеміологічного дослідження. Зокрема, це дозволяє уникнути відмов від участі у дослідженні осіб, для яких використан-

Таблиця 11.2

Молекулярно-генетичні детермінанти чутливості до захворювань

Гени-кандидати	Вид патології	Джерело інформації
<i>CYP1A1, GSTM1, GSTT1</i>	Рак легенів	Taioli et al., 2003 Vineis et al., 2004 Hung et al., 2003
<i>XRCC1, APE1</i>	Меланома	Li et al., 2006
<i>ALDH2, ADH2</i>	Колоректальний рак	Mattsuo et al., 2006
<i>FAS, FASL</i>	Рак шийки матки	Lai et al., 2005
<i>NAT2, NAT1</i>	Рак сечового міхура	Taylor et al., 1998
<i>NAT2, GSTM1</i>	Рак сечового міхура	Hou et al., 2001
<i>GSTM1, GSTT1</i>	Рак молочної залози	Park et al., 2000
<i>GSTM1, GSTT1, GSTP1</i>	Рак сечового міхура	Srivastava et al., 2005
<i>CARD15, TNFα-prom</i>	Хвороба Крона	Linderson et al., 2005
<i>PRARγ, 2-ADRβ3</i>	Ожиріння	Ochoa et al., 2004
<i>GSTT1, GSTM1</i>	ХОЗЛ	Faramawy et al., 2009
<i>GCR, ESR2</i>	Остеопороз	Xiong et al., 2006

ня інвазивної технології є неприйнятним [180]. Зрештою, для потреб епідеміологічного дослідження можна з успіхом використати матеріал, одержаний під час рутинних хірургічних втручань або автопсії. Наприклад, для вивчення середовищних впливів на організм можна використовувати жирову тканину, видалену під час ліпосакції, або яєчники, видалені при оперативних втручаннях з приводу деяких форм раку. Дуже цінним матеріалом є фолікулярна рідина, яку можна одержати під час проведення процедур екстракорпорального запліднення. Для дослідження впливу хімічних чинників довкілля на легені можна використовувати рідину, одержану під час бронхоальвеолярного лаважу [1; 179]. Втім, для успішного завершення подібних проектів необхідна чітка взаємодія епідеміологів, лікарів-клініцистів і патологоанатомів.

Відтворюваність є основною вимогою для всіх епідеміологічних досліджень [2]. Вона досягається шляхом стандартизації методик та якості реагентів.

Надзвичайно складними є проблеми варіабельності ознаки всередині вибірки або протягом певного періоду часу на рівні індивідуума. Наприклад, індукцйбельність арилгідрокарбонгідроксилази, ферменту цитохрому P450, влітку є максимальною, тому дослідження цього показника доцільно проводити в іншу пору року [180]. З другого боку, у популяції цей показник широко варіює залежно від складу раціону, що потребує врахування аліментарного фактора під час популяційних досліджень.

Зазвичай, при проведенні епідеміологічних досліджень намагаються максимально зменшити гетерогенність вибірки [1–3]. Це досягається шляхом використання чітких критеріїв включення та виключення з вибіркової сукупності. Варіабельність ознаки, що вивчається, тип розподілу даних, розмір вибірки — всі ці критерії мають бути враховані на етапі підготовки даних для статистичного аналізу, що дозволяє зменшити імовірність похибки.

Часто фактор впливає на організм не постійно або немає змоги контролювати

цільовий параметр (біомаркер) протягом тривалого часу [142]. У цих випадках доводиться йти на певний компроміс. Наприклад, замість еритроцитів, які обновлюються кожні 120 днів, для оцінки ефектів несприятливих впливів можна використовувати (у тому числі для цитогенетичних і молекулярно-генетичних досліджень) лімфоцити циркулюючого пулу [181]. Кришталюк ока відображає всі метаболічні зміни, які відбувалися з організмом протягом життя [182]. Тому дослідження видалених під час оперативних втручань з приводу катаракти кришталіків дозволяє провести ретроспективну оцінку ефектів несприятливих впливів. Гермінативні клітини базального шару епітелію верхніх дихальних шляхів можуть з більшим успіхом використовуватися для оцінки біологічного ефекту, ніж поверхневі клітини, які швидко обновлюються [183].

Альтернативою цим підходам може бути повторне взяття проб протягом усього періоду спостереження. Але такий підхід можливий стосовно лише деяких біологічних рідин (грудне молоко, сеча, слина) або букального зскрібка (для молекулярно-генетичних досліджень) [183]. Нарешті, певну цінність має проведення ретроспективних досліджень із використанням біопатів або автопсійного матеріалу [184]. При цьому велика увага приділяється ретельному збиранню анамнезу — це дозволяє з'ясувати ступінь контакту з небезпечним чинником [2].

Питання валідності, тобто діагностичної цінності використання того чи іншого біологічного маркера, є дуже важливим. Залежно від чутливості та специфічності методу взаємодія у системі «людина-довкілля» буде досліджена з тим чи іншим рівнем надійності [1]. Відповідно, будуть ефективними у тій чи іншій мірі профілактичні заходи, запропоновані на підставі епідеміологічних досліджень. З метою оцінки валідності обраного біологічного маркера необхідно визначити його операційні характеристики (специфічність і чутливість, а також прогностичність позитивного та негативного результату, відношення правдоподібності позитивного результату і

відношення правдоподібності негативного результату, діагностичну цінність тесту).

Таким чином, основою молекулярної епідеміології довкілля є дослідження генетичних маркерів чутливості, а саме генів ферментів системи біотрансформації ксенобіотиків, і використання аддуктів ДНК як маркерів дози та ефекту канцерогенних сполук. Зважаючи на посилення антропогенного впливу на довкілля, широке впровадження молекулярно-генетичних технологій у практику профілактичної медицини є невідкладним завданням.

Список літератури

1. *Merrill R. M. Environmental Epidemiology: Principles and Methods* / R. M. Merrill. — 1 ed. — Jones & Bartlett Pub., 2007. — 483 p.
2. *Baker D. Environmental Epidemiology: Study methods and application* / D. Baker, J. Mark. — 1 ed. — Nieuwenhuijsen Oxford University Press (USA), 2008. — 368 p.
3. *Тимченко О. І. Гігієна довкілля: політика, практика, перспективи* / О. І. Тимченко, А. М. Сердюк, О. І. Турос. — К., 2000. — 127 с.
4. *Morabia A. A History of Epidemiologic Methods and Concepts : Kindle Edition* / A. Morabia. — 1 ed. — Basel : Birkhäuser, 2006. — 405 p.
5. *Профілактична медицина: стратегія зміцнення здоров'я в Україні* / А. М. Сердюк, О. І. Тимченко, Н. Г. Гойда [та ін.] // Вісник соціальної гігієни організації охорони здоров'я України. — 2002. — № 2. — С. 89-93.
6. *Drobne D. Nanotoxicology for safe and sustainable nanotechnology* / D. Drobne // Arh. Hig. Rada. Toksikol. — 2007. — Vol. 58, N 4. — P. 471-478.
7. *Galloway T. S. Biomarkers in environmental and human health risk assessment* / T. S. Galloway // Mar. Pollut. Bull. — 2006. — Vol. 53, N 10-12. — P. 606-613.
8. *Гончарук Є. Г. Вільнорадикальне окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих факторів довкілля : огляд літератури та власні дослідження* / Є. Г. Гончарук, М. М.

Коршун // Журнал Акад. мед. наук України. — 2004. — Т. 10, № 1. — С. 131-150.

9. Сидоренко Г. И. Современные проблемы экогигиены / Г. И. Сидоренко. — К. : Хрещатик, 1993. — 96 с.

10. Основы оценки риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду / под ред. Ю. А. Рахманина, Г. Г. Онищенко. — М. : ГУ НИИ ЭЧиГОС им. А. Н. Сысина РАМН, 2002. — 408 с.

11. Стратегия ООН для устойчивого развития в условиях глобализации / под ред. акад. РАМН Н. Ф. Измерова. — М. : РАЕН, 2005. — 248 с.

12. Використання оцінки ризику для здоров'я населення в пілотному проєкті американської агенції з охорони довкілля щодо впровадження методології оцінки ризику в Україні / А. М. Сердюк, О. І. Турос, А. А. Петросян [та ін.] // Гігієна населених місць : зб. наук. праць. — К., 2006. — Вип. 48. — С. 39-43.

13. Звиняцковский Я. И. Факторы риска и здоровье населения, проживающего в различных условиях окружающей среды / Я. И. Звиняцковский, О. В. Бердник // Довкілля та здоров'я. — 1996. — № 1. — С. 8-11.

14. Бардов В. Г. Здоровье населения как критерий качества окружающей среды / В. Г. Бардов, С. Т. Омельчук, В. А. Барановский // Медицинская география на пороге XXI века : материалы 10-й Всероссийской конференции по медицинской географии с международным участием, октябрь 1999 г. — СПб., 1999. — С. 58-60.

15. Соціальна медицина та організація охорони здоров'я / за заг. ред. Ю. В. Вороненка, В. Ф. Москаленка. — Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. — 680 с.

16. Буштуева К. А. Методы и критерии оценки состояния здоровья населения в связи с загрязнением окружающей среды / К. А. Буштуева, И. С. Случанко. — М. : Медицина, 1979. — 160 с.

17. Лисицын Ю. П. Общественное здоровье и здравоохранение : учебник для вузов / Ю. П. Лисицын. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2002. — 520 с.

18. Лисицын Ю. П. Здравоохранение в XX веке : монография / Ю. П. Лисицын. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2002. — 216 с.

19. Коршун М. М. До питання удосконалення розрахункового нормування вмісту пестицидів у ґрунті / М. М. Коршун // Гігієна населених місць. — К., 2004. — Вип. 43. — С. 156-164.

20. Постанова Кабінету Міністрів України № 391 від 30.03.1998 р. «Про затвердження Положення про державну систему моніторингу довкілля» [Електронний ресурс]. — Режим доступу : <http://www.rada.kiev.ua/cgi-bin/putfile.cgi>

21. Peters R. Significance of biochemical lesions in the pyruvate oxidase system / R. Peters // Br. Med. Bull. — 1953. — Vol. 9, N 2. — P. 116-122.

22. Garrod A. E. Inborn Errors of Metabolism / A. E. Garrod // The Lancet Building. — 2 ed. — London : Henry Frowde, Hodder & Stoughton, 1932. — 216 p.

23. Perera F. P. Molecular epidemiology and carcinogen-DNA adduct detection: new approaches to studies of human cancer causation / F. P. Perera, I. B. Weinstein // J. Chronic. Dis. — 1982. — Vol. 35, N 7. — P. 581-600.

24. Laberge C. M. Rationale for an integrated approach to genetic epidemiology / C. M. Laberge, B. M. Knoppers // Bioethics. — 1992. — Vol. 6 (4). — P. 317-330.

25. Основы валеологии / под общ. ред. акад. В. П. Петленко. — Кн. 1. — К. : Олимпийская литература, 1998. — 209 с.

26. Епідеміологічні методи вивчення неінфекційних захворювань : навч. посібник / В. М. Лехан, Ю. В. Вороненко, О. П. Максименко [та ін.]. — Дніпропетровськ : АРТ-ПРЕС, 2004. — 184 с.

27. Безматерных Л. Э. Диагностическая эффективность методов количественной оценки индивидуального здоровья / Л. Э. Безматерных, В. П. Куликов // Физиология человека. — 1998. — Т. 24, № 3. — С. 79-85.

28. Киселев А. В. Оценка риска здоровью / А. В. Киселев, К. Б. Фридман. — СПб., 1997. — 100 с.

29. Stevens G. Глобальные факторы риска для здоровья: прогресс и проблемы

- [Электронный ресурс] / G. Stevens, M. Mascarenhas, C. Mathers // Бюллетень Всемирной организации здравоохранения. — 2009, сентябрь. — Вып. 87, № 9. — Режим доступа : doi:10.2471/BLT.09.070565
30. *Проблемы оценки риска воздействия факторов окружающей среды на здоровье населения Республики Казахстан* / С. М. Омирбаева, Г. А. Кулкыбаев, А. Е. Шпаков [и др.] // Гигиена и санитария. — 2008. — № 1. — С. 23-26.
31. *Бердник О. В.* Екологічні аспекти оцінки стану здоров'я населення / О. В. Бердник, Л. В. Серих // Довкілля та здоров'я. — 2001. — Т. 17, № 2. — С. 32-34.
32. *Duramad P.* Cytokines and other immunological biomarkers in children's environmental health studies / P. Duramad, I. B. Tager, N. T. Holland // Toxicol. Lett. — 2007. — Vol. 172, N 1-2. — P. 48-59.
33. *Бердник О. В.* Чувствительность организма к факторам окружающей среды: индивидуальная чувствительность / О. В. Бердник // Довкілля та здоров'я. — 2000. — № 1. — С. 39-41.
34. *Бердник О. В.* Чувствительность организма к факторам окружающей среды. 1. Популяционная чувствительность / О. В. Бердник // Довкілля та здоров'я. — 1998. — Т. 4, № 1. — С. 18-21.
35. *Бердник О. В.* Критеріальні ознаки залежностей в системі «навколишнє середовище — здоров'я населення» / О. В. Бердник, Л. В. Серих, В. Ю. Зайковська // Охорона здоров'я і довкілля : матеріали наук.-практ. конф. — Львів, 1996. — С. 24-25.
36. *Ворохта Ю. Н.* Становление современной рискометрической практики в научных исследованиях кафедры общей гигиены Одесского государственного медицинского университета / Ю. Н. Ворохта // Гігієнічні проблеми Півдня України : матеріали наук.-практ. конф., присв. 100-річчю ювілею кафедри загальної гігієни Одеського державного медичного університету (1903–2003 рр.). — Одеса, 2003. — С. 179-181.
37. *Проблема* ризику в медико-біологічній безпеці : огляд літератури / А. М. Сердюк, А. Б. Качинський, І. О. Черніченко, Є. П. Журавльов // Журн. АМН України. — 2003. — Т. 9, № 4. — С. 768-779.
38. *Качинський А. Б.* Методологічні основи аналізу ризику в медико-екологічних дослідженнях та його значення для екологічної безпеки / А. Б. Качинський, А. М. Сердюк // Лікувальна справа. — 1995. — Т. 3/4. — С. 5-15.
39. *The Agency for Toxic Substances and Disease Registry's role in development and application of biomarkers in public health practice* / C. T. Derosa, Y. W. Stevens, J. D. Wilson [et al.] // Toxicol. Ind. Health. — 1993. — Vol. 9, N 6. — P. 979-994.
40. *Гигиеническое* регламентирование и риск / И. А. Черниченко, А. М. Сердюк, О. Н. Литвиченко, Н. В. Баленко // Гигиена и санитария. — 2006. — Т. 1. — С. 30-32.
41. *GEENET Progress Report, 1996* [Електронний ресурс]. — Режим доступу : http://whqlibdoc.who.int/hq/1996/WHO_ENG_96.21.pdf
42. *European Charter on Environment and Health, 1989* [Електронний ресурс]. — Режим доступу : http://whqlibdoc.who.int/euro/-1993/ICP-RUD_113.pdf
43. *Коротун О. П.* Вікові аспекти гігієнічної оцінки біомаркерів ефекту та схильності до нітратної інтоксикації / О. П. Коротун, Л. І. Власик // Буковинський медичний вісник. — Т. 11, № 3. — 2007. — С. 122-125.
44. *Фальфушинська Г. І.* Металотіонеїни як біомаркери забруднення водного середовища йонами міді і цинку / Г. І. Фальфушинська, О. Б. Столяр, М. М. Касянчук // Наукові записки Тернопільського педуніверситету. Серія: Біологія. — 2003. — Т. 20, № 1. — С. 94-97.
45. *Нечай О. С.* Еколого-генетичні аспекти репродукційного здоров'я жінок в умовах забруднення довкілля : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 03.00.15 / О. С. Нечай ; Інститут гігієни та медичної екології ім. О. М. Марзєєва АМН України. — К., 2005. — 24 с.
46. *Шамрай В. А.* Гігієнічна оцінка впливу довкілля на формування онкогінекологічної патології та обґрунтування заходів щодо її профілактики : автореф. дис. на здо-

буття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.02.01 / В. А. Шамрай ; Донецький держ. мед. ун-т ім. М. Горького. — Донецьк, 2006. — 19 с.

47. *Floris M.* Sulle anemie saturnine / *M. Floris, S. Muntoni, A. Cau* // *Rass. Med. Ind. Ig. Lav.* — 1952. — Vol. 21, N 1. — P. 33-48.

48. *Трахтенберг И. М.* Книга о ядах и отравлениях. Очерки токсикологии / *И. М. Трахтенберг.* — К. : Наук. думка, 2000. — 366 с.

49. *Sir George Baker and lead poisoning* // *Med. Sci.* — 1963. — Vol. 14. — P. 113.

50. *Aronson S. M.* The colic of Devonshire / *S. M. Aronson* // *Med. Health. R. I.* — 1997. — Vol. 80, N 7. — P. 214-215.

51. *Буравльов Є. П.* Довкілля та здоров'я людини / *Є. П. Буравльов* // *Довкілля та здоров'я.* — 2000. — № 3. — С. 11-16.

52. *Larsen B.* Hygiene and health in developing countries: defining priorities through cost-benefit assessments / *B. Larsen* // *Int. J. Environ. Health. Res.* — 2003. — Suppl. 1. — P. 37-46.

53. *Сердюк А. М.* Методические вопросы создания мониторинга «Окружающая среда — здоровье населения Украины» / *А. М. Сердюк, О. В. Бердник, М. Ю. Антамонов* // *Довкілля та здоров'я.* — 1997. — № 2. — С. 54-55.

54. *Ревич Б. А.* Экологическая эпидемиология / *Б. А. Ревич, С. Л. Авалиани, Г. И. Тихонова.* — М. : Академия, 2004. — 384 с.

55. *Нікберг І. І.* Радіаційна гігієна / *І. І. Нікберг.* — К. : Здоров'я, 1999. — С. 33-41, 65-84.

56. *Лось И. П.* Ограничение облучения человека техногенно усиленными источниками природного происхождения / *И. П. Лось, Т. А. Павленко* // *Довкілля та здоров'я.* — 2003. — № 1. — С. 49-54.

57. *Мудрий І. В.* Еколого-гігієнічне значення аніонних поверхнево-активних речовин в умовах комплексного антропогенного хімічного забруднення ґрунту сільськогосподарських угідь : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : спец. 14.02.09 / *І. В. Мудрий* ; Український науковий гігієнічний центр. — К., 1997. — 43 с.

58. *Омельчук С. Т.* Гігієна застосування пестицидів і агрохімікатів на територіях, що зазнали радіоактивного забруднення, та у зонах надзвичайних екологічних ситуацій : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : спец. 14.02.01 / *С. Т. Омельчук* ; Національний медичний ун-т ім. О. О. Богомольця. — К., 2001. — 35 с.

59. *Does living near a constellation of petrochemical, steel, and other industries impair health?* / *R. S. Bhopal, S. Moffatt, T. Pless-Mulloli* [et al.] // *Occup. Environ. Med.* — 1998. — Vol. 55, N 12. — P. 812-822.

60. *Турос О. І.* Розробка наукових підходів до вдосконалення гігієнічної оцінки небезпеки від джерел забруднення атмосферного повітря на основі показників ризику : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : спец. 14.02.01 / *О. І. Турос* ; АМН України ; ДУ «Інститут гігієни та медичної екології ім. О. М. Марзеєва». — К., 2008. — 39 с.

61. *Is it feasible to construct a community profile of exposure to industrial air pollution?* / *T. Pless-Mulloli, C. E. Dunn, R. Bhopal* [et al.] // *Occup. Environ. Med.* — 2000. — Vol. 57, N 8. — P. 542-549.

62. *Mesleksel, cevresel maruziyetler ve akciğer sağlığı ilişkisi* / *N. Komus, S. Albayrak, H. Ellidokuz, A. H. Cimrin* // *Tuberk. Toraks.* — 2008. — Vol. 56, N 3. — P. 275-282.

63. *Olden K.* Health-related disparities: influence of environmental factors / *K. Olden, S. L. White* // *Med. Clin. North. Am.* — 2005. — Vol. 89, N 4. — P. 721-738.

64. *Пирожков С. І.* Концепція ризику та екологічна безпека / *С. І. Пирожков* // *Довкілля та здоров'я.* — 1996. — № 1. — С. 12-15.

65. *Генофонд і здоров'я населення: методологія оцінки ризику від мутагенів довкілля, напрямки профілактики генетично обумовленої патології* / *А. М. Сердюк, О. І. Тимченко, Н. Г. Гойда* [та ін.]. — К., 2003. — 190 с.

66. *Task Force III Report, USNIEHS* (U. S. National Institute for Environmental Health Sciences). — Washington, D. C. : U. S. Government Printing Office, 1984. — P. 197-259.

67. *Cunningham E. P.* Biological identification systems: genetic markers / E. P. Cunningham, C. M. Meghen // *Rev. Sci. Tech.* — 2001. — Vol. 20, N 2. — P. 491-499.
68. *Determination of phenotypic characteristics of an individual on the basis of analysis of genetic markers using biological microchips* / T. V. Nasedkina, D. O. Fesenko, O. N. Mityaeva [et al.] // *Dokl. Biochem. Biophys.* — 2008. — Vol. 422. — P. 304-307.
69. *Awa A. A.* Review of thirty years study of Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivors. II. Biological effects. B. Genetic effects. 2. Cytogenetic effects / A. A. Awa // *J. Radiat. Res.* — 1975. — Vol. 16 (Suppl. 1). — P. 75-81.
70. *Moons K. G.* Criteria for Scientific Evaluation of Novel Markers: A Perspective / K. G. Moons // *Clin Chem.* — 2010. — Vol. 56. — P. 537-541.
71. *Peptidomics: identification of pathogenic and marker peptides* / Y. Xiang, M. S. Kurokawa, M. Kanke [et al.] // *Methods. Mol. Biol.* — 2010. — Vol. 615. — P. 259-271.
72. *Мирошніченко І. І.* Биомаркеры в современной медицинской и биологической практике / И. И. Мирошніченко, С. Н. Птицына // *Биомедицинская химия.* — 2009. — Т. 55, № 4. — С. 425-440.
73. *Gubb E.* Introduction to omics / E. Gubb, R. Matthiesen // *Methods. Mol. Biol.* — 2010. — Vol. 593. — P. 1-23.
74. *Mathivanan S.* ExoCarta: A compendium of exosomal proteins and RNA / S. Mathivanan, R. J. Simpson // *Proteomics.* — 2009. — Vol. 9, N 21. — P. 4997-5000.
75. *Возіанов О. Ф.* Медична генетика, геноміка, генетична медицина — прогноз на найближче майбутнє / О. Ф. Возіанов // *Мистецтво лікування.* — 2003. — № 6. — С. 6-9.
76. *Попов В. В.* Геноміка с молекулярно-генетическими основами / В. В. Попов. — М.: Медицина, 2009. — 304 с.
77. *Мутовин Г. Р.* Клиническая генетика. Геноміка и протеомика наследственной патологии / Г. Р. Мутовин. — 3-е изд., перераб. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 832 с.
78. *Ридли М.* Геном / М. Ридли. — М.: Эксмо, 2008. — 432 с.
79. *Примроуз С.* Геноміка. Роль в медицині / С. Примроуз, Р. Твиман. — М.: БИНОМ, 2008. — 278 с.
80. *Поліморфізм гена TNF α 308*G/A* як біомаркер ризику розвитку пневмоконіозу у шахтарів вугільних шахт / Н. Г. Горovenko, Н. В. Журахівська, А. В. Басанець [та ін.] // *Укр. журн. з пробл. мед. праці.* — 2007. — Т. 10, № 2. — С. 15-20.
81. *Savas S.* Genetic variations as cancer prognostic markers: review and update / S. Savas, G. Liu // *Hum. Mutat.* — 2009. — Vol. 30, N 10. — P. 1369-1377.
82. *Biomarkers in nutritional epidemiology: applications, needs and new horizons* / M. Jenab, N. Slimani, M. Bictash [et al.] // *Hum. Genet.* — 2009. — Vol. 125, N 5/6. — P. 507-525.
83. *Дмитренко С. В.* Фенотипічні та генетичні маркери у хворих на псоріаз жителів Поділля : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.01.20 / С. В. Дмитренко ; Національний медичний ун-т ім. О. О. Богомольця. — К., 2008. — 20 с.
84. *He Y. D.* Genomic approach to biomarker identification and its recent applications / Y. D. He // *Cancer. Biomark.* — 2006. — Vol. 2, N 3/4. — P. 103-133.
85. *Hagemann R.* Das Watson—Crick Modell — Die DNA-Doppelhelix. Die Vorgeschichte der Entdeckung und die Rolle des Protein-Paradigmas / R. Hagemann // *Acta Hist Leopoldina.* — 2007. — Bd. 48 — S. 113-158.
86. *Shampo M. A.* Hermann Muller-Nobel Prize for contributions to genetics / M. A. Shampo, R. A. Kyle // *Mayo. Clin. Proc.* — 1999. — Vol. 74, N 3. — P. 242.
87. *Molineux I. J.* Fifty-three years since Hershey and Chase; much ado about pressure but which pressure is it? / I. J. Molineux // *Virology.* — 2006. — Vol. 344, N 1. — P. 221-229.
88. *Watson J. D.* The structure of DNA / J. D. Watson, F. H. Crick // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* — 1953. — Vol. 18. — P. 123-131.
89. *Custer L. L.* The role of genetic toxicology in drug discovery and optimization / L. L. Custer, K. S. Sweder // *Curr. Drug.*

Metab. — 2008. — Vol. 9, N 9. — P. 978-985.

90. *Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: the role of selected CYP, NAT and GST genes* / R. Thier, T. Brüning, P. H. Roos [et al.] // Int. J. Hyg. Environ. Health. — 2003. — Vol. 206, N 3. — P. 149-171.

91. *Завгородний И. В.* Токсикогеномика как одно из приоритетных направлений в современной профилактической токсикологии / И. В. Завгородний, Е. П. Грабовецкая, Г. Ю. Пышнов // Современные проблемы токсикологии. — 2006. — № 3. — С. 82-85.

92. *Штабський Б. М.* Ксенобіотики, гомеостаз і хімічна безпека людини / Б. М. Штабський, М. Р. Гжегоцький. — Львів : Видавничий Дім «Наутилус», 1999. — 308 с.

93. *Toxicogenomics: transcription profiling for toxicology assessment* / T. Zhou, J. Chou, P. B. Watkins, W. K. Kaufmann // EXS. — 2009. — Vol. 99. — P. 325-366.

94. *Challenges to environmental toxicology and epidemiology: where do we stand and which way do we go?* / B. Pesch, T. Brüning, R. Frentzel-Beyme [et al.] // Toxicol Lett. — 2004. — Vol. 151, N 1. — P. 255-266.

95. *Choudhuri S.* Looking back to the future: from the development of the gene concept to toxicogenomics / S. Choudhuri // Toxicol. Mech. Methods. — 2009. — Vol. 19, N 4. — P. 263-277.

96. *Murcray C. E.* Gene-environment interaction in genome-wide association studies / C. E. Murcray, J. P. Lewinger, W. J. Gauderman // Am. J. Epidemiol. — 2009. — Vol. 169, N 2. — P. 219-26.

97. *Motulsky A. G.* Pharmacogenetics, pharmacogenomics and ecogenetics / A. G. Motulsky, M. Qi // J. Zhejiang. Univ. Sci. B. — 2006. — Vol. 7, N 2. — P. 169-170.

98. *Biomarkers in toxicology and risk assessment: informing critical dose-response relationships* / J. A. Swenberg, E. Fryar-Tita, Y. C. Jeong [et al.] // Chem. Res. Toxicol. — 2008. — Vol. 21, N 1. — P. 253-265.

99. *Watson W. P.* Role of biomarkers in monitoring exposures to chemicals: present position, future prospects / W. P. Watson,

A. Mutti // Biomarkers. — 2004. — Vol. 9, N 3. — P. 211-242.

100. *Chaudhry M. A.* Biomarkers for human radiation exposure / M. A. Chaudhry // J. Biomed. Sci. — 2008. — Vol. 15, N 5. — P. 557-563.

101. *Platelet APP isoform ratios correlate with declining cognition in AD* / F. Baskin, R. N. Rosenberg, L. Iyer [et al.] // Neurology. — 2000. — Vol. 54, N 10. — P. 1907-1909.

102. *Immunophenotypic analysis of bone marrow B lymphocyte precursors (hematogones) by flow cytometry* / N. Braham Jmili, S. Nsaibia, M. C. Jacob [et al.] // Clin. Lab. Sci. — 2009. — Vol. 22, N 4 — P. 208-215.

103. *Tarantino G.* Could quantitative liver function tests gain wide acceptance among hepatologists? / G. Tarantino // World. J. Gastroenterol. — 2009. — Vol. 15, N 28. — P. 3457-3461.

104. *A comparison of different lead biomarkers in their associations with lead-related symptoms* / B. K. Lee, K. D. Ahn, S. S. Lee [et al.] // Int. Arch. Occup. Environ. Health. — 2000. — Vol. 73, N 5. — P. 298-304.

105. *Справочник по токсикологии и гигиеническим нормативам (ПДК) потенциально опасных химических веществ* / под ред. В. С. Кушневая, Р. Б. Горшкова — М. : ИздАТ, 1999. — 272 с.

106. *Genetic safety evaluation of pesticides in different short-term tests* / P. Hrelia, F. Vigagni, F. Maffei [et al.] // Mutat. Res. — 1994. — Vol. 321, N 4. — P. 219-228.

107. *Luch A.* Molecular, Clinical and Environmental Toxicology. Vol. 1 : Molecular Toxicology (Experientia Supplementum) / A. Luch. — 1 ed. — Basel : Birkhäuser, 2008. — 470 p.

108. *Luch A.* Molecular, clinical and environmental toxicology. Preface / A. Luch // EXS. — 2009. — Vol. 99. — P. XI-XIV.

109. *Luch A.* Molecular, Clinical and Environmental Toxicology. Vol. 2 : Clinical Toxicology (Experientia Supplementum) / A. Luch. — 1 ed. — Basel : Birkhäuser, 2010. — 619 p.

110. *Gomase V.* Transcriptomics: Expression Pattern Analysis / V. Gomase. — VDM Verlag, 2009. — 436 p.

111. *Reinders J.* Proteomics: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology) / J. Reinders, A. Sickmann. — 1 ed. — Humana Press, 2009. — 420 p.
112. *Lindon J. C.* The Handbook of Metabonomics and Metabolomics / J. C. Lindon, J. K. Nicholson, E. Holmes. — 1 ed. — Elsevier Science, 2007. — 572 p.
113. *Burczynski M. E.* An Introduction to Toxicogenomics / M. E. Burczynski. — 1 ed. — Informa Healthcare, 2003. — 348 p.
114. *Applications of Toxicogenomic Technologies to Predictive Toxicology and Risk Assessment* / Committee on Applications of Toxicogenomic Technologies to Predictive Toxicology and Risk Assessment (Author). — National Research Council National Academies Press, 2007. — 300 p.
115. *Essential Concepts in Toxicogenomics* (Methods in Molecular Biology) / eds. D. L. Mendrick, W. B. Mattes. — 1 ed. — Humana Press, 2008. — 277 p.
116. *Inoue T.* Toxicogenomics / T. Inoue, W. T. Pennie. — 1 ed. — Springer, 2002. — 250 p.
117. *Sahu S.* Toxicogenomics: A Powerful Tool for Toxicity Assessment / S. Sahu. — 1 ed. — Wiley, 2008. — 422 p.
118. *Monitoring expression of genes involved in drug metabolism and toxicology using DNA microarrays* / D. Gerhold, M. Lu, J. Xu [et al.] // *Physiol. Genomics*. — 2001. — Vol. 5, N 4. — P. 161-170.
119. *Dziusa D. M.* Data Mining for Genomics and Proteomics: Analysis of Gene and Protein Expression Data (Wiley Series on Methods and Applications in Data Mining) / D. M. Dziuda. — Wiley-Interscience, 2010. — 336 p.
120. *Kannicht C.* Post-translational Modifications of Proteins: Tools for Functional Proteomics (Methods in Molecular Biology) / C. Kannicht. — 2 ed. — Humana Press, 2008. — 390 p.
121. *Merrick B. A.* The role of toxicoproteomics in assessing organ specific toxicity / B. A. Merrick, F. A. Witzmann // *EXS*. — 2009. — Vol. 99. — P. 367-400.
122. *Association between carcinogen-DNA adducts in white blood cells and lung cancer risk in the physicians health study* / D. Tang, D. H. Phillips, M. Stampfer [et al.] // *Cancer Res.* — 2001. — Vol. 61, N 18. — P. 6708-6712.
123. *DNA adducts and induction of sister chromatid exchanges in the rat following benzo[b]fluoranthene administration* / J. A. Ross, G. B. Nelson, K. L. Holden [et al.] // *Carcinogenesis*. — 1992. — Vol. 13, N 10. — P. 1731-1734.
124. *Temporal patterns of aflatoxin-albumin adducts in hepatitis B surface antigen-positive and antigen-negative residents of Daxin, Qidong County, People's Republic of China* / J. S. Wang, G. S. Qian, A. Zarba [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.* — 1996. — Vol. 5, N 4. — P. 253-261.
125. *Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in young children from Benin and Togo: cross sectional study* / Y. Y. Gong, K. Cardwell, A. Hounsa [et al.] // *BMJ*. — 2002. — Vol. 325, N 7354. — P. 20-21.
126. *Differences in hemoglobin adduct levels of acrylamide in the general population with respect to dietary intake, smoking habits and gender* / L. Hagmar, E. Wirfält, B. Paulsson, M. Törnqvist // *Mutat. Res.* — 2005. — Vol. 580, N 1/2. — P. 57-65.
127. *An evaluation of styrene genotoxicity using several biomarkers in a 3-year follow-up study of hand-lamination workers* / P. Vodicka, T. Tvrdik, S. Osterman-Golkar [et al.] // *Mutat. Res.* — 1999. — Vol. 445, N 2. — P. 205-224.
128. *Molecular epidemiological studies in 1,3-butadiene exposed Czech workers: female-male comparisons* / R. J. Albertini, R. J. Sram, P. M. Vacek [et al.] // *Chem. Biol. Interact.* — 2007. — Vol. 166, N 1-3. — P. 63-77.
129. *Chromosomal aberrations and risk of cancer in humans: an epidemiologic perspective* / S. Bonassi, A. Znaor, H. Norppa, L. Hagmar // *Cytogenet. Genome Res.* — 2004. — Vol. 104, N 1-4. — P. 376-382.
130. *Ovarian cancer: can we make the clinical diagnosis earlier?* / L. H. Smith, C. R. Morris, S. Yasmeen [et al.] // *Cancer*. — 2005. — Vol. 104, N 7. — P. 1398-1407.
131. *Chromosomal aberrations in humans induced by benzene* / B. Holecková, E. Piesová, K. Sivikova, J. Dianovský // *Ann. Agric. Environ. Med.* — 2004. — Vol. 11, N 2. — P. 175-179.

132. *Biomarkers* in maternal and newborn blood indicate heightened fetal susceptibility to procarcinogenic DNA damage / F. P. Perera, D. Tang, Y. H. Tu [et al.] // *Environ. Health. Perspect.* — 2004. — Vol. 112, N 10. — P. 1133-1136.
133. *Assessment* of 1,3-butadiene exposure in polymer production workers using HPRT mutations in lymphocytes as a biomarker / M. M. Ammenheuser, W. E. Bechtold, S. Z. Abdel-Rahman [et al.] // *Environ. Health. Perspect.* — 2001. — Vol. 109, N 12. — P. 1249-1255.
134. *Influence* of polymorphism of GSTM1 gene on association between glycoprotein a mutant frequency and urinary PAH metabolites in incineration workers / K. H. Lee, J. Lee, M. Ha [et al.] // *J. Toxicol. Environ. Health. A.* — 2002. — Vol. 65, N 5-6. — P. 355-363.
135. *p53*, *p63* and *p73* expression in squamous cell carcinomas of the head and neck and their response to cisplatin exposure / C. Gwosdz, V. Balz, K. Scheckenbach, H. Bier // *Adv. Otorhinolaryngol.* — 2005. — Vol. 62. — P. 58-71.
136. *Increased* activator protein 1 activity as well as resistance to heat-induced radiosensitization, hydrogen peroxide, and cisplatin are inhibited by indomethacin in oxidative stress-resistant cells / C. M. Bradbury, J. E. Locke, S. J. Wei [et al.] // *Cancer. Res.* — 2001. — Vol. 61, N 8. — P. 3486-3492.
137. *Garcia J. A.* Systemic chemotherapy for advanced bladder cancer: update and controversies / J. A. Garcia, R. Dreicer // *J. Clin. Oncol.* — 2006. — Vol. 24, N 35. — P. 5545-5551.
138. *CYP1A1* T3801 C polymorphism and lung cancer: a pooled analysis of 2451 cases and 3358 controls / P. Vineis, F. Veglia, S. Benhamou [et al.] // *Int. J. Cancer.* — 2003. — Vol. 104, N 5. — P. 650-657.
139. *Schatzkin A.* Problems with using biomarkers as surrogate end points for cancer: a cautionary tale / A. Schatzkin // *Recent Results Cancer. Res.* — 2005. — Vol. 166. — P. 89-98.
140. *Biomarkers of Disease: An Evidence-Based Approach* / A. K. Trull, L. M. Demers, D. W. Holt [et al.] — 1 Reprint ed. — Cambridge University Press, 2008. — 520 p.
141. *Запорожан В. М.* Молекулярно-генетичні детермінанти виникнення мультифакторіальних захворювань: сучасний стан проблеми і перспективи дослідження / В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, Ю. М. Ворохта // *Інтегративна антропологія.* — 2008. — Т. 12, № 2. — С. 4-7.
142. *Бажора Ю. І.* Молекулярна епідеміологія: її значення в сучасній медицині / Ю. І. Бажора // *Інтегративна антропологія.* — 2008. — Т. 11, № 1. — С. 4-10.
143. *Search* for multifactorial disease susceptibility genes in founder populations / C. Bourgain, E. Genin, H. Quesneville, F. Clerget-Darpoux // *Ann. Hum. Genet.* — 2000. — Vol. 64 (Pt. 3). — P. 255-265.
144. *Clavel J.* Progress in the epidemiological understanding of gene-environment interactions in major diseases: cancer / J. Clavel // *C. R. Biol.* — 2007. — Vol. 330, N 4. — P. 306-317.
145. *Krämer S. D.* The biochemistry of drug metabolism — an introduction: part 6. Inter-individual factors affecting drug metabolism / S. D. Krämer, B. Testa // *Chem. Biodivers.* — 2008. — Vol. 5, N 12. — P. 2465-2578.
146. *Засипка Л. Г.* Позитивістська парадигма в еколого-гігієнічних дослідженнях / Л. Г. Засипка, Ю. М. Ворохта // *Інтегративна антропологія.* — 2009. — Т. 13, № 1. — С. 42-46.
147. *Altshuler D.* Genetic mapping in human disease / D. Altshuler, M. J. Daly, E. S. Lander // *Science.* — 2008. — Vol. 322, N 5903. — P. 881-888.
148. *Collins A.* Allelic association: linkage disequilibrium structure and gene mapping / A. Collins // *Mol. Biotechnol.* — 2009. — Vol. 41, N 1. — P. 83-89.
149. *Quantitative* trait loci mapping / D. H. Xiong, J. F. Liu, Y. F. Guo [et al.] // *Methods Mol. Biol.* — 2008. — Vol. 455. — P. 203-235.
150. *The role* of genes in disease: beware of simplistic interpretations! // *Prescrire Int.* — 2009. — Vol. 18, N 104. — P. 279-282.

151. *Feingold J.* Maladies multifactorielles: un cauchemar pour le geneticien / J. Feingold // *Med. Sci. (Paris)*. — 2005. — Vol. 21, N 11. — P. 927-933.
152. *Badner J. A.* Optimal ascertainment strategies to detect linkage to common disease alleles / J. A. Badner, E. S. Gershon, L. R. Goldin // *Am. J. Hum. Genet.* — 1998. — Vol. 63, N 3. — P. 880-888.
153. *Guo S. W.* Gene-environment interactions and the affected-sib-pair designs / S. W. Guo // *Hum. Hered.* — 2000. — Vol. 50, N 5. — P. 271-285.
154. *Baron M.* Optimal ascertainment strategies to detect linkage to common disease alleles / M. Baron // *Am. J. Hum. Genet.* — 1999. — Vol. 64, N 4. — P. 1243-1248.
155. *Conneally P. M.* The complexity of complex diseases / P. M. Conneally // *Am. J. Hum. Genet.* — 2003. — Vol. 72, N 2. — P. 229-232.
156. *Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology: the role of selected CYP, NAT and GST genes* / R. Thier, T. Brüning, P. H. Roos [et al.] // *Int. J. Hyg. Environ. Health.* — 2003. — Vol. 206, N 3. — P. 149-171.
157. *Пентюк О. О.* Цитохром P450E1. Поліморфізм, фізіологічна функція, регуляція та роль в патології / О. О. Пентюк, С. О. Качула, О. Х. Герич // *Український біохімічний журнал.* — 2004. — Т. 76, № 5. — С. 16-28.
158. *Genetic polymorphism of conjugating enzymes and cancer risk: GSTM1, GSTT1, NAT1 and NAT2* / E. Lee, Y. Huang, B. Zhao [et al.] // *J. Toxicol. Sci.* — 1998. — Vol. 23, Suppl. 2. — P. 140-142.
159. *Cascorbi I.* Molecular-epidemiological aspects of carcinogenesis: the role of xenobiotic metabolizing enzymes / I. Cascorbi, J. Brockmöller, I. Roots // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* — 2002. — Vol. 40, N 12. — P. 562-563.
160. *Bozina N.* Genetic polymorphism of metabolic enzymes P450 (CYP) as a susceptibility factor for drug response, toxicity, and cancer risk / N. Bozina, V. Bradamante, M. Lovrić // *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* — 2009. — Vol. 60, N 2. — P. 217-242.
161. *Les cytochromes P450: metabolisme des xenobiotiques, regulation et role en clinique* / Y. Guéguen, K. Mouzat, L. Ferrari [et al.] // *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. — 2006. — Vol. 64, N 6. — P. 535-548.
162. *Wilson S. H.* The Environmental Genome Project: phase I and beyond / S. H. Wilson, K. Olden // *Mol. Interv.* — 2004. — Vol. 4, N 3. — P. 147-156.
163. *Polymorphisms in CYP1A1, GSTM1, GSTT1 and lung cancer below the age of 45 years* / E. Taioli, L. Gaspari, S. Benhamou [et al.] // *Int. J. Epidemiol.* — 2003. — Vol. 32, N 1. — P. 60-63.
164. *CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and lung cancer: a pooled analysis of gene-gene interactions* / P. Vineis, F. Veglia, S. Anttila [et al.] // *Biomarkers.* — 2004. — Vol. 9, N 3. — P. 298-305.
165. *CYP1A1 and GSTM1 genetic polymorphisms and lung cancer risk in Caucasian non-smokers: a pooled analysis* / R. J. Hung, P. Boffetta, J. Brockmöller [et al.] // *Carcinogenesis.* — 2003. — Vol. 24, N 5. — P. 875-882.
166. *Genetic variants of the ADPRT, XRCC1 and APE1 genes and risk of cutaneous melanoma* / C. Li, Z. Liu, L. E. Wang [et al.] // *Carcinogenesis.* — 2006. — Vol. 27, N 9. — P. 1894-1901.
167. *A gene-gene interaction between ALDH2 Glu487Lys and ADH2 His47Arg polymorphisms regarding the risk of colorectal cancer in Japan* / K. Matsuo, K. Wakai, K. Hirose [et al.] // *Carcinogenesis.* — 2006. — Vol. 27, N 5. — P. 1018-1023.
168. *Genetic polymorphisms of FAS and FASL (CD95/CD95L) genes in cervical carcinogenesis: An analysis of haplotype and gene-gene interaction* / H. C. Lai, W. Y. Lin, Y. W. Lin [et al.] // *Gynecol. Oncol.* — 2005. — Vol. 99, N 1. — P. 113-118.
169. *The role of N-acetylation polymorphisms in smoking-associated bladder cancer: evidence of a gene-gene-exposure three-way interaction* / J. A. Taylor, D. M. Umbach, E. Stephens [et al.] // *Cancer. Res.* — 1998. — Vol. 58, N 16. — P. 3603-3610.
170. *Differential interactions between GSTM1 and NAT2 genotypes on aromatic DNA adduct level and HPRT mutant fre-*

quency in lung cancer patients and population controls / S. M. Hou, S. Fält, K. Yang [et al.] // *Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev.* — 2001. — Vol. 10, N 2. — P. 133-140.

171. *Alcohol* consumption, glutathione S-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms and breast cancer risk / S. K. Park, K. Y. Yoo, S. J. Lee [et al.] // *Pharmacogenetics.* — 2000. — Vol. 10, N 4. — P. 301-309.

172. *Association* of genetic polymorphism of glutathione S-transferase M1, T1, P1 and susceptibility to bladder cancer / D. S. Srivastava, D. K. Mishra, A. Mandhani [et al.] // *Eur. Urol.* — 2005. — Vol. 48, N 2. — P. 339-344.

173. *Functional* interaction of CARD15/NOD2 and Crohn's disease-associated TNF-alpha polymorphisms / Y. Linderson, F. Bresso, E. Buentke [et al.] // *Int. J. Colorectal. Dis.* — 2005. — Vol. 20, N 4. — P. 305-311.

174. *Gene-gene* interaction between PPAR gamma 2 and ADR beta 3 increases // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* — 2004. — Vol. 28, Suppl. 3. — S. 37-41.

175. *Genetic* polymorphism of GSTT1 and GSTM1 and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease (COPD) / M. M. Faramawy, T. O. Mohammed, A. M. Hossaini [et al.] // *J. Crit. Care.* — 2009. — Vol. 24, N 3. — E. 7-10.

176. *Robust* and comprehensive analysis of 20 osteoporosis candidate genes by very high-density single-nucleotide polymorphism screen among 405 white nuclear families identified significant association and gene-gene interaction / D. H. Xiong, H. Shen, L. J. Zhao [et al.] // *J. Bone. Miner. Res.* — 2006. — Vol. 21, N 11. — P. 1678-1695.

177. *Wünsch Filho V.* Modern cancer epidemiological research: genetic polymorphisms and environment / V. Wünsch Filho, M. A. Zago // *Rev. Saude Publica.* — 2005. — Vol. 39, N 3. — P. 490-497.

178. *Nussbaum R.* Thompson & Thompson Genetics in Medicine / R. Nussbaum, R. McInnes, H. Willard. — 6 ed. — Saunders, 2004. — 444 p.

179. *Schulte P.* Molecular Epidemiology: Principles and Practices / O. Schute, F. Perera. — Academic Press, 1998. — 588 p.

180. *Bottinger E. P.* Foundations, promises and uncertainties of personalized medicine / E. P. Bottinger // *Mt. Sinai. J. Med.* — 2007. — Vol. 74, N 1. — P. 15-21.

181. *Indulski J. A.* Biomarkery neurotoksycznych oddziaływan chemikaliów środowiskowych / J. A. Indulski, W. Lutz // *Med. Pr.* — 1996. — Vol. 47, N 4. — P. 383-391.

182. *Weber G. F.* The canonical intrinsic mitochondrial death pathway has a non-apoptotic role in signaling lens cell differentiation / G. F. Weber, A. S. Menko // *J. Biol. Chem.* — 2005. — Vol. 280, N 23. — P. 22135-22145.

183. *Pattern* of antioxidant and DNA repair gene expression in normal airway epithelium associated with lung cancer diagnosis / T. Blomquist, E. L. Crawford, D. Mullins [et al.] // *Cancer Res.* — 2009. — Vol. 69, N 22. — P. 8629-8635.

184. *Gyogyszerek* és abuzusszerek igazságügyi toxikológiai vizsgálatára hajból / G. Klausz, K. Kass, P. Sótónyi, K. Róna // *Orv. Hetil.* — 2006. — Vol. 147, N 45. — P. 2181-2186.

Розділ 12. Біоетичні проблеми і розвиток молекулярної епідеміології

BIOETHICAL PROBLEMS AND THE DEVELOPMENT OF MOLECULAR EPIDEMIOLOGY

The development of molecular epidemiology caused not only the medical and economical problems but also the social ones related to the bioethical issues. The principal predicaments of bioethics which are the challenges for the specialists in molecular epidemiology and the possible ways of their decision are discussed in the chapter.

Термін «біоетика» запровадив Ван Ренселлер Поттер у своїй книзі «Біоетика: міст у майбутнє» (1971) [1]. Наприкінці 60-х років розгорнулася боротьба проти медицини і науки, сповнена обвинувачень і дорікань. В. Р. Поттер висловився про необхідність нової етики, яка могла б протистояти викликам, на які наражається людство внаслідок науково-технічного прогресу. Ця нова етика покликана зважати також на поганий стан навколишнього середовища. Новий напрям на стику медико-біологічної науки і етики — біоетика — це своєрідний «крик про допомогу» з боку тих людей, що самі не займалися медичними та біологічними дослідженнями, але зіткнулися з ризиками негативних наслідків таких досліджень.

Питанням деонтології завжди приділялося багато уваги. З часів Гіппократа відомо про «моральність у медицині» та «медичну етику» [2; 3]. Втім, медична етика здебільшого була закритою сферою, обговорення моральних і деонтологічних проблем проводилося всередині медичної корпорації і рідко впливали назовні не завжди прийнятні з етичного боку проблеми діяльності наукових і практичних закладів охорони здоров'я. Проте стрімкий розвиток медицини і біології породжував нові питання, що стосуються і лікарів, і вчених, і кожного жителя планети Земля. Медицина протягом тривалого часу була професією, що проповідувала високі ідеали

гуманного і співчутливого ставлення до хворого, але дедалі ставала усе більш технологізованою [3].

Можливо, історія біоетики почалася на Нюрнберзькому процесі, коли правда про моторошні діяння нацистських лікарів стала відома людству. Лікарі-нацисти у «наукових цілях» умертвили 70 000 осіб: людей із фізичними недоліками, людей, що вважалися «некорисними» для суспільства: душевнохворих, євреїв, циган і маргіналів [4]. Нацистами була розроблена надзвичайно ефективна програма евтаназії. Світу також стало відомо, що деякі лікарі, у супереччя клятві Гіппократа, ставили злочинницькі досліди на військовополонених і особах, депортованих із окупованих нацистами країн, тим самим збезчестивши професію медика. Саме на Нюрнберзькому процесі світ уперше висловив сумнів щодо сумлінності лікарів і лікарської етики [3; 4]. Нещодавно стало відомо, що такі ж злочинницькі досліди проводили лікарі в Японії під час Другої світової війни [5]. Є повідомлення про досліди на ув'язнених з використанням смертельних отрут, що проводилися в Радянському Союзі в 1930–1950-х роках [6].

Кілька років по тому громадськості стало відомо про нові скандальні випадки порушення медичної етики. Цього разу вони трапилися у Сполучених Штатах Америки — країні, що оприлюднила відомості про злочини нацистських лікарів і вихваляла-

ся своєю повагою до прав людини. Два з них особливо вразили громадську думку [7; 8].

Так, в 1963 р. у Брукліні в Єврейській лікарні для страждаючих на хронічні захворювання з метою експерименту літнім пацієнтам без їхньої згоди були введені активні ракові клітини [7]. А у період між 1965 і 1971 рр. у Державній лікарні Уїлоубрук (штат Нью-Йорк) проводилися дослідження вірусного гепатиту. У ході цих досліджень вірус гепатиту В вводили дітям із фізичними недоліками, що знаходилися у цій лікарні [8]. Після цих та інших скандалів людство зрозуміло, що біомедичні дослідження (при тому, що для цих досліджень необхідні клінічні експерименти) можуть призводити до подібних ексцесів [1; 3].

То що ж таке «біоетика»? Це міждисциплінарна галузь знання, що охоплює широке коло філософських і етичних проблем, які виникають у зв'язку з бурхливим розвитком медицини, біологічних наук і використанням в охороні здоров'я високих технологій [1; 3; 9; 10]. Вона опікується морально-філософськими проблемами абортів, контрацепції та нових репродуктивних технологій (штучне запліднення, запліднення «у пробірці», сурогатне материнство); проведенням експериментів на людині і тваринах; одержанням інформованої згоди та забезпеченням прав пацієнтів (у тому числі з обмеженою компетентністю, наприклад дітей або психічно хворих); виробленням критеріїв смерті, самогубства і евтаназії (пасивної чи активної, добровільної чи недобровільної), ставлення до помираючих хворих (хоспіси, кабінети паліативної допомоги); питаннями вакцинації та СНІДу; популяційної політики і планування родини; міждисциплінарної генетики (включаючи проблеми геномних досліджень і маніпуляцій); трансплантології; справедливості в охороні здоров'я; екології та багатьох інших проблем [9].

В основі біоетики лежать принципи незаподіяння шкоди, забезпечення блага для пацієнтів, поваги до автономії пацієнта та справедливого доступу до ресурсів медичної допомоги. Однак, як правило, у засто-

суванні будь-яких медичних технологій, і навіть виконанні окремих маніпуляцій, криються певні ризики. Лікарю доводиться вибирати між позитивними та негативними наслідками лікування, іноді для врятування життя пацієнта суттєво обмежувати його працездатність і рівень соціальної адаптації. Однією з найбільш серйозних проблем є нерівність можливостей у використанні останніх досягнень медичної науки для хворих із різним соціально-економічним статусом. Це стосується і доступу до генетичного консультування, перинатальної діагностики та багатьох інших сфер медичної діяльності, тісно пов'язаних із завданнями молекулярної епідеміології як щодо неінфекційної, так і інфекційної патології.

Останні тридцять-сорок років відзначені дивовижними досягненнями у галузі біомедичних наукових і методологічних досліджень. Можна стверджувати, що у цій сфері відбулася справжня революція. У цілому ці досягнення мали позитивний характер. Однак вони ж породили нові моральні проблеми і дилеми. Поряд із біоетичними проблемами, пов'язаними із використанням спеціального обладнання для компенсації органної недостатності, трансплантології, тканинної та клітинної терапії, пренатальної діагностики та штучного запліднення, контрацепції, штучного переривання вагітності, епідеміологічного контролю за соціально значущими інфекціями, надзвичайно важливими є проблеми, що постали перед людством завдяки розвитку генетичних технологій [11].

Як відомо, біологічні дослідження у галузі генетики дуже швидко дали успішні результати. Вже у 1956 р. був установлений взаємозв'язок між генетичним кодом і хромосомами [12]. Рестриктивні ферменти були відкриті Абером у 1965 р., а на початку 70-х років Smith і Nethan винайшли «ензиматичний ніж» [12]. Це відкрило нову епоху для генетичних маніпуляцій разом з її позитивними результатами (використання бактерій як фабрики людського інсуліну, виробництво людського соматотропного гормону) та ризиками (небезпека евгенізму та дискримінації) [13].

Реалізація програми вивчення геному людини озброїла фахівців досить повним уявленням про карту і будову генетичної системи та її патологію. Для профілактики та лікування генетичних захворювань це може дати позитивні результати, але для страждаючих на генетичні порушення або для осіб, що мають генетичну схильність до деяких захворювань (наприклад, рак молочної залози чи рак легенів, лейкемія, серцево-судинні захворювання, порушення обміну речовин), це може мати негативні наслідки. Роботодавці та страхові компанії зможуть реально скористатися генетичним скринінгом при доборі людей на роботу або при оформленні страхових полісів, що породить новий вид дискримінації у суспільстві [14, 15].

Із розвитком генетичного скринінгу постають питання про право людини на отримання (чи неотримання) інформації, а також про профілактику генетичних вад чи генетично детермінованих захворювань, що нині здійснюється, в основному, при пренатальній діагностиці та шляхом абортів носіїв генетичних аномалій.

Ще в 1989 р. у США вийшла друком монографія «Етика і генетика людини. Дані кроскультурного дослідження», в якій були представлені результати дослідження, спрямованого на виявлення та аналіз тих поглядів, якими керуються фахівці з різних країн світу при розв'язанні різноманітних етичних проблем, що виникають при проведенні ними генетичного консультування, пренатальної діагностики та масового обстеження (скринінгу) населення з метою виявлення хворих на спадкові хвороби або носіїв патологічно обтяжених генетичних варіантів. У дослідженні взяли участь 682 фахівці з 19 країн світу. Шляхом опитування були визначені особливості розв'язання етичних проблем при різноманітних ситуаціях у медичній практиці. Незважаючи на те, що з моменту публікації книги минуло 20 років, результати цього дослідження залишаються актуальними і для сьогодення [16].

Перш за все, з'ясувалося, що найбільш складною і найбільш важливою для більшості респондентів виявилася проблема,

пов'язана з повним розкриттям інформації про захворювання або метод лікування. Така інформація потенційно може завдати психологічної шкоди особі, що звернулася до лікаря. На момент проведення дослідження дві третини фахівців вважали, що інформування хворого про наслідки обстеження є доцільним тільки за умови його прямого звернення до лікаря, тому що клієнт має право не знати про високий ризик виникнення у нього генетично детермінованої патології. До речі, 62 % респондентів вважали, що інформування дітей клієнта про наявність у нього генетичних ризиків є необов'язковим. Однак лікарі з Греції, Індії та Турції вважали за доцільне інформувати про генетичні ризики і близьких родичів хворого. Переважна більшість фахівців із різних країн світу вважала неприпустимим інформувати про результати обстеження роботодавців і страхові компанії.

До найважливіших завдань генетиками були зараховані правильний розподіл ресурсів і збільшення обсягу коштів, що виділяються на розвиток системи медико-генетичного обслуговування населення. Більшість питань, які привертають увагу суспільства (селекція статі на пренатальному етапі, обстеження на робочому місці з метою виявлення схильності до професійного захворювання), були розцінені спеціалістами як малозначущі.

При визначенні основних етичних принципів, якими керуються фахівці з генетичного моніторингу і консультування, 93 пункти опитувальника були об'єднані у 6 груп: принцип автономії (поваги до особистості), принцип незавдання шкоди, принцип допомоги і сприяння, принцип справедливості, принцип утилітаризму, позаетичні принципи (наукові, метафізичні, релігійні тощо). Більшість респондентів віддавали пріоритет принципу автономії, в тому числі захисту прав осіб зі зниженою автономією (дітей, інвалідів із затримкою розумового розвитку тощо).

Особливо гостро постають біоетичні проблеми у випадках генетичного скринінгу на рівні популяції, генетичного скринінгу на виробництві та при проведенні пре-

натальної діагностики і скринінгу новонароджених [17–20]. Генетичний моніторинг на популяційному рівні дозволяє виявити носіїв генів тяжких спадкових захворювань. При цьому нерідко виникає моральний конфлікт, який полягає в тому, що стикаються обов'язок лікаря повідомити про ризик виникнення спадкового захворювання або про захворювання, що вже виникло, з вимогами до конфіденційності особистої інформації.

Скринінг на виробництві у розвинутих країнах світу проводиться з кінця 70-х років ХХ ст. Він вперше був впроваджений на підприємствах великих корпорацій з метою обмеження прийому на роботу осіб з підвищеним ризиком виникнення професійної патології. Це призвело до низки дискримінаційних рішень, внаслідок чого в деяких штатах США було схвалено постанови про неприпустимість примусового генетичного обстеження для працюючих і про заборону участі у скринінгу представників страхових компаній. У деяких країнах світу сьогодні існують законодавчі акти, які забороняють дискримінацію у сфері освіти, страхування і найму на роботу, яка ґрунтується на даних генетичного обстеження [14; 21].

Надзвичайно велику увагу приділяють нині у розвинутих країнах світу пренатальній діагностиці. Завдяки застосуванню сучасних малоінвазивних методів сьогодні є можливим визначити діагноз спадкового захворювання на ранніх термінах гестації, що дозволяє вчасно прийняти рішення про переривання вагітності. Відомі випадки, коли лікаря, який вчасно не рекомендував пацієнтці зробити амніоцентез, за рішенням суду примусили довічно сплачувати компенсацію жінці, яка народила дитину з синдромом Дауна [19].

Чимало біоетичних проблем пов'язано із розвитком генотерапії — методу лікування спадкових та мультифакторних хвороб, який ґрунтується на перенесенні генетичного матеріалу за допомогою вірусних або інших векторів (переносників) безпосередньо у кров і тканини хворого або спочатку в лабораторно ізольовані клітини хворого, які в подальшому йому пересаджують. На

думку дослідників, що займаються цим напрямом, метод є дуже перспективним для розробки ефективних способів лікування злоякісних новоутворень, серцево-судинних захворювань, ВІЛ-інфекції, аутоімунних захворювань. Однак сьогодні генна терапія є скоріше надією, ніж реальністю, тому що важко знайти правильного носія здорових генів, що вноситимуться в набір хромосом хворого, а також тому, що далеко не завжди ефективною буває експресія тих генів, що вже були успішно внесені в набір хромосом хворого. Нині триває пошук шляхів профілактики спадкових захворювань клітин за допомогою генотерапії плода [22].

Сьогодні при проведенні досліджень у галузі молекулярної епідеміології перед фахівцями та суспільством постає одне основне питання: чи повинне бути дозволене усе, що є технічно можливим? Зрозуміло, що як тільки в результаті наукових досліджень з'являються нові можливості, вони швидко впроваджуються в практику без яких-небудь роздумів про етичність справи. З появою та впровадженням нового методу ніхто не зважає ні на які обмеження, стримування з боку виробників чи користувачів. Єдиний ефективний бар'єр — це співвідношення вартості та зиску. Усе, що може зробити прихильник моральності — це потім таврувати ганьбою людську нерозумність, нагадуючи, що варто було б робити і чого не варто, якщо прислухатися до голосу здорового глузду [18].

Кажуть: прогрес зупинити не можна. Але що таке прогрес? Існує загальна тенденція використовувати це слово стосовно будь-якого нового товару на ринку, не думаючи про моральність чи можливу дискримінацію [12].

Анрі Пуанкаре вважав сміховинною саму думку про те, що парламенти різних держав можуть приймати компетентні рішення з питань наукових досліджень. Він писав: «Варто керуватися своєю совістю; будь-яке правове втручання буде недоречним і трохи безглуздом». Проте світ змінився. Сьогодні вже йдеться про створення наукового трибуналу для врегулювання спірних питань; пропонують укласти

звід законів щодо наукових досліджень, є пропозиції, щоб наукові журнали утримувалися від публікацій результатів досліджень у тому разі, якщо ці результати отримані за допомогою засобів, які можуть викликати заперечення з погляду моральності [21].

Стосовно генетичних досліджень (у зв'язку з розбіжностями поглядів щодо випробувань, заснованих на використанні рекомбінантних ДНК) з'явилася думка навіть про те, що «легше жити, коли нічого не знаєш». Свого часу Аристотель стверджував: «Людська сутність така, що люди хочуть знати» [12]. Знання важко оцінити за схемою «вартість/зиск». От чому тут потрібна розважливість, з якою вчені повинні підходити до своїх бажань й амбіцій. Є такі способи проведення наукових досліджень, якими ліпше не користуватися.

Якщо вірити оптимістам, із розвитком генетичної медицини ми одержуємо ключі до розв'язання головних проблем боротьби з невиліковними хворобами, такими як рак, СНІД, діабет тощо. Можливо, не за горами ті часи, коли середня тривалість життя людини сягатиме 150 років, а її активні творчі можливості істотно зростуть [23].

Завдяки неідентичності генів у різних людей, можна одержати інформацію для складання «геномного» паспорта, «молекулярної дактилоскопії», для розвитку таких наук, як історія, палеонтологія, археологія, антропологія, етнографія, лінгвістика. Результати геномних досліджень, можливо, допоможуть пояснити парадокси лінгвістичної карти світу [24].

Проте люди вже звикли очікувати від науки не тільки нових можливостей, але і нових небезпек. Відому істину «наука стає небезпечною, коли починає вважати, що домоглася своїх цілей» забувати не можна. От чому у дослідженні людського геному нагромадження нової наукової інформації крокує в ногу з аналізом соціальних, етичних і правових проблем, породжуваних цими дослідженнями. Інформація, задована в генах людини, може становити інтерес для різних людей і соціальних служб. Як вже зазначалося, для роботодавця вона

може стати підставою для відмови в робочому місці, обґрунтовуючи це тим, що робота в певних виробничих умовах підвищує ризик виникнення того чи іншого захворювання в осіб з генетичною схильністю до цього. Інформація може зацікавити того, хто займається медичним страхуванням: знаючи про генетичну схильність до певної хвороби, компанія зажадає від людини підвищених страхових платежів [20].

Із розвитком генетичної медицини та молекулярної епідеміології виникла ціла низка питань: чи можна передавати інформацію про гени конкретної людини третім особам без її відома, використовувати цю інформацію з дослідницькою метою та багато інших. Досі не визначені підходи до такої важливої проблеми, як інформування родичів особи з генетичною детермінацією про високий ризик тяжкого захворювання [23].

Невирішеним залишається питання, як слід чинити у тих випадках, коли генетичний тест виявив у людини схильність до невиліковної хвороби, яка чатуватиме на неї у похилому віці (наприклад, хвороба Альцгеймера чи хронічний мієлолейкоз) [9; 23].

Виявлення генетичної схильності до окремих форм раку потягнуло за собою складні морально-етичні й організаційно-технічні проблеми у системі охорони здоров'я [17; 23]. Відомо, що тільки половина кровних родичів є носіями мутацій того або іншого гена. Але особливість цих генів полягає в тому, що вони ніяк не виявляють себе до виникнення пухлини, тобто неможливо без проведення відповідних молекулярно-генетичних досліджень заздалегідь довідатися, хто із членів родини є носієм мутантного гена і дійсно схильний до розвитку раку, а хто ні. Тому сьогодні медики змушені усіх членів таких родин включати в групу підвищеного ризику [17].

У зв'язку з цим виникають деякі етичні проблеми. Відомо, що у переважній більшості випадків рак молочної залози не належить до категорії наслідуваних форм, тож навряд чи доцільно виділяти усіх родичів хворих у спеціальні групи. Інакше ми матимемо величезну кількість здорових,

але наляканих жінок, у яких є родичі, хворі на рак молочної залози і які намагаються одержати рекомендації з проведення генетичного тестування. Тим же часом маммографія, самоконтроль стану молочних залоз є необхідною умовою раннього виявлення раку, незалежно від того, чи є жінка носієм мутації тригерного гена, чи ні [17; 25].

Надмірний акцент на питанні про генетичну схильність до раку в тих або інших родинах породжує серйозні етичні проблеми, навіть у разі точної діагностики спадкового онкологічного синдрому вибір рішення винятково складний, особливо якщо йдеться про здорових носіїв, оскільки клінічно генетичні дефекти виявляються не завжди. На думку деяких фахівців, це ставить під сумнів необхідність виконання зайвих кардинальних утручань, таких як профілактичне видалення молочних залоз у носіїв мутації BRCA-1 і BRCA-2. Необхідно також враховувати психологічні наслідки (канцерофобія), обумовлені позитивним результатом генетичного тестування [26].

Очевидно, що генетична інформація може мати чималу комерційну цінність. Втім, питання її захисту від несанкціонованого використання не мають ані методологічного, ані законодавчого супроводу [18].

Наприклад, відомо, що шкідливого впливу на гени соматичних клітин може зазнати лише індивідум, який має генетичні зміни, обумовлені цим впливом. Втім, при впливі на зародкові клітини генетичні наслідки можуть позначатися навіть на потомстві. Наслідки таких впливів/втручань можуть виявитися лише в черзі поколінь. А чи має право дитина бути не об'єктом, а суб'єктом?

Якщо уявити собі, що можливість відбракувати неповноцінних з'явилася у людства вже в XVIII–XIX ст., то у цьому разі у нас, напевно, не було б Достоевського, тому що в нього вчасно б виявили схильність до епілепсії, не було б Чехова — він був схильний до туберкульозу, не було б Ван Гога і Кандінського — ймовірна психічна нестабільність, не було б і Бетховена, адже лікарі вчасно б визначили, що він

втратить слух. Замовникам цілої популяції поліпшеного у певному сенсі генофонду може виявитися і правлячий режим тоталітарного типу. Зрештою, такі спроби в історії людства вже були — євгенікою захоплювалися не лише нацисти, але й цілком помірковані режими [3].

Отже, сучасні методи дозволяють дослідникам секвенувати геном людини цілком, однак це може мати як позитивні, так і негативні наслідки. З одного боку, такі роботи незамінні у діагностиці різних захворювань, у розробці безпечних і ефективних лікарських препаратів, з другого — вони можуть призвести до сканування індивідуальних геномів і створення «генетичних паспортів», ідею яких багато хто вважає вторгненням у приватне життя індивідуума [21].

У дослідженні, проведеному під керівництвом Тімоті Колфілда, була спростована ймовірність того, що теоретичні можливості «прочитати» геном індивідуума цілком може викликати радикальні зміни етичних стандартів генетичних досліджень [27]. Критики геномних досліджень заявляють, що інформація про секвенування геному людини може передаватися третім особам, використовуватися в несанкціонованих дослідженнях і бути опублікованою без згоди індивідуума. Однак сьогодні така можливість якщо й існує, то ймовірність її наближається до нуля [25].

Можливо, сьогоднішня ситуація зміниться в майбутньому, тому Колфілд наполягає на «жорсткому етичному контролі дослідників і їхньої роботи, пов'язаної з вивченням геному». Публікація даних про індивідуальні геноми має відбуватися винятково за письмової згоди людини, що бере участь в експерименті. Також вся інформація про дослідження геному і подальшу долю отриманих даних повинна надаватися учасникам експерименту без обмежень [27].

В Україні рішенням біоетичних питань займаються Національний комітет з біоетики при Президії НАН України, Комітет з біоетики при НАМН України, Українська асоціація з біоетики, Український інформаційний центр з біоетики та ін. Їх діяль-

ність регламентується міжнародними документами. Це Декларація принципів толерантності (28-ма сесія ЮНЕСКО, 1995), Загальна декларація про геном людини й права людини (29-та сесія ЮНЕСКО, 1997), Універсальна декларація з біоетики і прав людини (ООН, 1997), Конвенція про захист прав і достоїнства людини у зв'язку із застосуванням досягнень біології й медицини («Конвенція про права людини і біомедицину», Рада Європи, 1997), Гельсінська декларація (Всесвітня медична асамблея, 1964) та її наступні редакції.

Декларація Всесвітньої медичної асоціації (ВМА) «Етичні принципи, яких необхідно дотримуватися при проведенні наукових досліджень за участі людей» була ухвалена 18-ю Генеральною Асамблеєю ВМА (Гельсінкі, Фінляндія, червень 1964) і в подальшому виправлена і доповнена 29-ю Генеральною Асамблеєю ВМА (Токіо, Японія, жовтень 1975); 35-ю Генеральною Асамблеєю ВМА (Венеція, Італія, жовтень 1983); 41-ю Генеральною Асамблеєю ВМА (Гонконг, вересень 1989); 48-ю Генеральною Асамблеєю ВМА (Сомерсет Вест, Південно-Африканська республіка, жовтень 1996) [28]. Останній перегляд декларації відбувся під час засідань 52-ї Генеральної Асамблеї ВМА (Единбург, Шотландія, жовтень 2000). Ця декларація була розроблена для затвердження етичних принципів з метою забезпечення керівництва для лікарів й інших учасників медичних досліджень за участі людей. За визначенням декларації, медичні дослідження за участі людей — це такі випробування, в яких піддаються впізнаванню/визначенню особистості/певний людський матеріал або розпізнаванню певні дані, до яких належить і генетична інформація.

З метою запобігання дискримінації за генетичними ознаками «Декларація про геном людини та права людини» (ВООЗ, 1992) містить рекомендації щодо забезпечення доступного для всіх генетичного консультування із неухильним дотриманням принципу автономії особи, що підлягає генетичному скринінгу, її права вирішувати питання, пов'язані з участю у цій процедурі та з використанням одержаної

внаслідок обстеження інформації [29]. Велика увага приділяється забезпеченню повної поінформованості пацієнта або його законного представника щодо усіх процедур, пов'язаних з одержанням генетичної інформації, а також збереження медичної таємниці та нерозголошення конфіденційної генетичної інформації шляхом передачі її третім особам. Єдиним виключенням може бути ситуація, коли йдеться про серйозне захворювання, запобігти якому можна лише за умов розкриття одержаної інформації; при цьому необхідною умовою є відмова пацієнта від розкриття цієї інформації добровільно, незважаючи на всі попередні спроби переконати його. Однак у цьому разі розкривається не вся інформація, а тільки необхідна її частина.

Відповідно до спільного Наказу МОЗ і НАМН України № 313/59 від 01.12.2000 «Про подальший розвиток медичної генетики та біоетики в Україні» було створено Міжвідомчу координаційну раду з фундаментальних і прикладних проблем медичної генетики при Президії НАМН України і МОЗ України [30], яка опікується і біоетичними проблемами, що виникають у галузі молекулярної епідеміології.

Список літератури

1. *Potter V. P.* Bioethics: Bridge to the future / V. P. Potter // Englewood Cliffs. — N. J. Prentice-Hall, 1971. — 196 p.
2. *Етика* врача: пересматривается или совершенствуется? // Здоров'я України. — 2005. — Т. 134/135, № 1/2. — С. 57.
3. *Грандо А. А.* Врачебная этика / А. А. Грандо, С. А. Грандо. — К. : РИА «Триумф», 1994. — 256 с.
4. *Cohen B.* The ethics of using medical data from Nazi experiments / B. Cohen // J. Halacha Contemporary Society. — 1990. — Vol. 19. — P. 103-126.
5. *Nie J. B.* The United States cover-up of Japanese wartime medical atrocities: complicity committed in the national interest and two proposals for contemporary action / J. B. Nie // Am. J. Bioeth. — 2006. — Vol. 6, N 3. — P. 21-33.

6. Федоров Л. А. Химическое оружие в России: история, экология, политика / Л. А. Федоров. — М., 1994. — 50 с.
7. Preminger B. A. The case of Chester M. Southam: research ethics and the limits of professional responsibility / B. A. Preminger // *Pharos Alpha Omega Alpha Honor. Med. Soc.* — 2002. — Vol. 65, N 2. — P. 4-9.
8. Diamond E. F. The Willowbrook experiments / E. F. Diamond // *Linacre Q.* — 1973. — Vol. 40, N 2. — P. 133-137.
9. Запорожан В. М. Біоетика : підручник / В. М. Запорожан, М. Л. Аряєв. — К. : Здоров'я, 2005. — 288 с.
10. Возіанов О. Ф. Біологічна етика — інвективи теоретиків і реалії життя / О. Ф. Возіанов // *Мистецтво лікування.* — 2004. — Т. 15, № 9. — С. 106-107.
11. Grunfeld G. B. Modern medicine and the emergence of biomedical ethics / G. B. Crunfeld // *Caduceus.* — 1992. — Vol. 8, N 1. — P. 1-22.
12. Фролов И. Т. Философия и история генетики / И. Т. Фролов // *Поиски и дискуссии.* — 2007. — 424 с.
13. Zucker A. Moral issues arising from genetics / A. Zucker, D. Patriquin // *Listening.* — 1987. — Vol. 22, N 1. — P. 65-85.
14. Zukerman W. Genetic discrimination in the workplace: towards legal certainty in uncertain times / W. Zukerman // *J. Law. Med.* — 2009. — Vol. 16, N 5. — P. 770-788.
15. Rothstein M. A. Currents in contemporary ethics. GINA, the ADA, and genetic discrimination in employment / M. A. Rothstein // *J. Law. Med. Ethics.* — 2008. — Vol. 36, N 4. — P. 837-840.
16. Wertz D. C. Ethics and Human Genetics: A Cross Cultural Perspective / D. C. Wertz, J. C. Fletcher // *Springer.* — 1989. — 536 p.
17. Рудык Ю. С. Аспекты врачебной этики: от клятвы Гиппократов до доказательной медицины / Ю. С. Рудык, С. Н. Пивовар // *Здоров'я України.* — 2005. — Т. 115, № 6. — С. 50-55.
18. Fenton E. Bioethics and human rights: curb your enthusiasm / E. Fenton, J. D. Arras // *Camb. Q. Healthc. Ethics.* — 2010. — Vol. 19, N 1. — P. 127-133.
19. Orzalesi M. Ethical problems with neonatal screening / M. Orzalesi, O. Danhaive // *Ann. Ist. Super. Sanita.* — 2009. — Vol 45, N 3. — P. 325-330.
20. Bale M. Key principles relating to genetic testing and insurance / M. Bale // *Law Hum. Genome. Rev.* — 2009. — Vol. 30. — P. 203-207.
21. Rothstein M. A. Keeping your genes private / M. A. Rothstein // *Sci. Am.* — 2008. — Vol. 299, N 3. — P. 64-69.
22. Горбунова В. Н. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний / В. Н. Горбунова, В. С. Баранов. — СПб. : Специальная Литература, 1997. — 287 с.
23. Cohen M. H. Future Medicine: Ethical Dilemmas, Regulatory Challenges, and Therapeutic Pathways to Health Care and Healing in Human Transformation / M. H. Cohen // *University of Michigan Press.* — 2002. — 376 p.
24. Cohen B. Updating the genomic component of the UMLS Semantic Network / B. Cohen, Y. Chen, Y. Perl // *AMIA Annu. Symp. Proc.* — 2007. — Vol. 11. — P. 150-154.
25. Vennin P. Consentement eclaire ou choix informe? Un dilemme ethique en pratique quotidienne / P. Vennin // *Bull. Cancer.* — 2007. — Vol. 94, N 5. — P. 453-459.
26. Rieger U. Praventive Mastektomie bei familiarem Brustkrebs-ethische Uberlegungen / U. Rieger, G. Pierer, O. Scheufler // *Praxis.* — 2008. — Vol. 97, N 20. — P. 1071-1076.
27. Caulfield T. Direct-to-consumer genetics and health policy: a worst-case scenario? / T. Culfield // *Am. J. Bioeth.* — 2009. — Vol. 9, N 6-7. — P. 48-50.
28. Декларація Всесвітньої Медичної Асоціації [Електронний ресурс]. — Режим доступу : <http://www.medicusamicus.com/index.php?action=laws2>
29. Декларація про геном людини [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://www.bioethics.ru/_Images/Catalog/137-1-33.pdf
30. Наказ МОЗ і АМН України № 313/59 від 01.12.2000 «Про подальший розвиток медичної генетики та біоетики в Україні» [Електронний ресурс]. — Режим доступу : <http://zakon.nau.ua/doc/?uid=1039.1673.0>

Розділ 13. Підсумки досягнень і перспективи розвитку молекулярної епідеміології

RESULTS OF ACHIEVEMENTS AND PERSPECTIVES OF MOLECULAR EPIDEMIOLOGY DEVELOPMENT

The main achievements of molecular epidemiology are summarized in the final chapter of the book. The role of the science in the decision making on the complex tasks of health care is stated by the particular cases related to the issues of the increase of diagnosis quality, treatment and preventions of the various diseases. It is demonstrated how the system of molecular-genetic researches is organized in the countries where this science has been developing successfully and the model of the structure which by authors' opinion could be functioning in the existing health care system of Ukraine.

Підбиваючи підсумок змісту попередніх розділів, слід відзначити чималу роль молекулярної епідеміології у вивченні на молекулярному рівні внеску потенційних генетичних й екологічних факторів ризику в етіологію та розповсюдження захворювань у межах окремих родин і популяцій в цілому та розробці на підставі результатів таких досліджень обґрунтованих профілактичних заходів. Цей новий науковий напрям з'явився зовсім недавно в результаті інтеграції молекулярної біології в клінічну та традиційну епідеміологію (рис. 13.1). Наразі більшість генетичних досліджень у клініці виконується в окремих осіб або в обмежених групах пацієнтів, але не у великих групах населення. Водночас більшість епідеміологічних досліджень, які ґрунтуються на обстеженні чималих груп населення, не стосується оцінки молекулярно-генетичних факторів ризику. Об'єднання зусиль молекулярних біологів і епідеміологів важливе для кращого розуміння етіології соціально значущих хвороб та розвитку їх молекулярної діагностики. Отримані внаслідок цього наукові дані необхідні для підвищення якості практичної медицини та розвитку стратегії охорони здоров'я.

Основною метою молекулярної епідеміології є:

- виконання описових й аналітичних досліджень, спрямованих на оцінку складних взаємодій у системі «людина-навколишнє середовище» в розвитку тієї чи іншої хвороби;
- розробка методів профілактики для керування бактеріальними вірусними інфекціями та паразитарними інвазіями на основі молекулярної діагностики;
- профілактика спадкових порушень і неінфекційних захворювань шляхом оцінки внутрішніх і зовнішніх факторів ризику для виявлення чутливості індивідів при генетичному скринінгу.

Для досягнення цієї мети необхідне сучасне біотехнологічне оснащення, обладнання і реактиви для вивчення потенційних генетичних і екологічних факторів ризику. Не менш важлива і підготовка відповідних спеціалістів — молекулярних епідеміологів, які володіють теорією та практикою молекулярної біології, здатні застосовувати ці знання в епідеміології, втілювати їх у клінічну практику.

Молекулярна епідеміологія використовує біомаркери і генетику для визначення як прихованого (спадкового) фактора, так

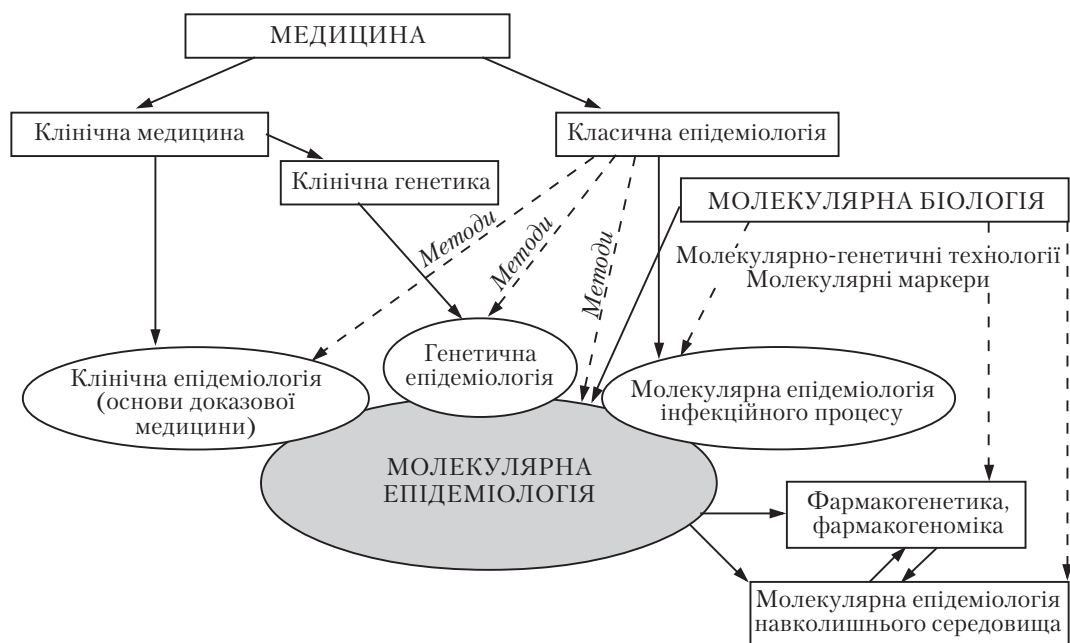


Рис. 13.1. Інтеграція молекулярної біології в клінічну та традиційну епідеміологію і створення молекулярної епідеміології

і наслідків його дії (набуті ознаки). Найбільша кількість наукових праць, присвячених молекулярно-епідеміологічним дослідженням із залученням генетики, опубліковано в галузі онкології [1; 2]. Вивчалися, в основному, спадкові варіанти або поліморфізми [3–6]. Такі поліморфізми, характерні для конкретних індивідів, можуть самі або в комбінації із зовнішніми факторами (харчування, спосіб життя, екологічна ситуація тощо) змінити ризик виникнення хвороби. З самого початку на ці дослідження покладалися великі надії, оскільки очікувалося, що вони зможуть пояснити протирічні зв'язки дієти чи способу життя з розвитком захворювань, описані в науковій літературі. Молекулярно-епідеміологічні дослідження мутацій у пухлинах надали інформацію про розповсюдження генетичного поліморфізму серед населення і показали, яким чином режим харчування і спосіб життя пов'язані зі специфічними генетичними змінами у пухлинах [7–9]. Ці дослідження дозволяють визначити фактори ризику і краще зрозуміти

процес канцерогенезу. Крім того, молекулярно-епідеміологічні дослідження мутацій у клітинах пухлин надали інформацію про розповсюдження цих специфічних змін серед населення в різних регіонах, а також їх зв'язок зі способом життя, дією екологічних факторів, на основі чого можна розробляти заходи, спрямовані на зниження дії факторів ризику [10–13].

Молекулярна епідеміологія — одна з наук, які є лідерами у XXI ст. Її виникнення та бурхливий розвиток пов'язані з реалізацією проекту “HUP”. Вона вкрай необхідна для зв'язку результатів, отриманих молекулярною біологією, з практичною медициною. Без ретельно відпрацьованих молекулярно-епідеміологічних досліджень, проведених у великих популяціях, неможливо інтерпретувати ступінь ризику виникнення хвороби, пов'язаної з певними генами чутливості. Молекулярна епідеміологія необхідна для підвищення якості діагностики, стратегії профілактики у системі охорони здоров'я, а також обговорення етичних, юридичних і соціальних проб-

лем, які виникли в результаті завершення проекту "HUP" [18].

Слід наголосити, що молекулярна біологія суттєво вплинула на розвиток класичної епідеміології. Новітні технології молекулярної біології, методи сучасної генетики, біоінформатики широко використовуються епідеміологами для вивчення закономірностей виникнення та розповсюдження інфекційних захворювань у популяціях населення. При цьому розв'язуються важливі фундаментальні та прикладні проблеми, наприклад, вивчення еволюції патогену та факторів, які впливають на цей процес; розкриття механізмів підтримки інфекції протягом міжепідемічного періоду; поява та розповсюдження епідемічних штамів; вивчення механізмів переходу інфекційного процесу з гострої форми у хронічну та оборотну; встановлення молекулярно-генетичних причин, які визначають вірулентність, тропізм, лікарську стійкість та інші властивості збудників, і на основі цього створення молекулярно-генетичних тестів для їх виявлення тощо [6]. Останніми роками наукові публікації, присвячені молекулярно-генетичним дослідженням патогену, набули значного розповсюдження, а в деяких часописах з'явилися окремі рубрики, присвячені молекулярній епідеміології. На нашу думку, це сприяє не зовсім правильному формуванню поняття про молекулярну епідеміологію в науковій та практикуючій медичній спільноті. У всіх зазначених вище випадках більш точним було б визначення «молекулярна епідеміологія інфекційного процесу».

Молекулярна епідеміологія використовує методи досліджень, які застосовуються в класичній епідеміології («випадок-контроль», когортні дослідження тощо). Однак для визначення розповсюдження захворювань в популяціях та ідентифікації етіологічних факторів вона користується методами молекулярної біології.

Свого часу було засновано міжнародний проект «Епідеміологія геному людини» (HuGENet). Однією з основних цілей цього проекту було вивчення впливу генетичного поліморфізму в популяціях людини на її здоров'я і захворюваність. Інтен-

сивно вивчається розповсюдження тих чи інших алельних варіантів у різних етнічних групах; ризик захворюваності, який ґрунтується на результатах обстеження населення; систематизуються дані про взаємодію «ген-ген», «ген-довкілля», «ген-хвороба»; надається інформація про генетичні тести [1].

Таким чином, класична епідеміологія, вивчаючи систему «хазяїн-патоген», наголошує на ланці «патоген», а молекулярна епідеміологія — на ланці «хазяїн» і, спираючись на неї, вивчає його взаємодію не тільки з «патогеном», якщо він присутній, але й з чинниками довкілля.

Якою є користь молекулярної епідеміології для медичної практики?

По-перше, вона упроваджує нові стандарти описової епідеміології, використовуючи молекулярні тести, діагностичні критерії, які застосовуються для виявлення випадків досліджуваної хвороби в більш-менш однорідних групах.

По-друге, вона знижує похибку оцінки проявів довкілля, враховує значущість субклінічних і ранніх клінічних ознак хвороби, зменшує різноманітність захворювання.

По-третє, на відміну від загальної епідеміології, розкриває багато ланок специфічного патогенезу, визначаючи молекули і гени, що впливають на ризик розвитку захворювання. Генетичні маркери більш надійні, ніж ретельно складений родовід для характеристики чутливості конкретного індивіда.

Отже, молекулярна епідеміологія — це наука, яка на молекулярному рівні трактує внесок можливих генетичних факторів ризику та довкілля на етіологію, розподіл та контроль над захворюванням в окремих родинах та популяції в цілому.

Інформація, яка стосується відносного, абсолютного та певного ризику розвитку хвороби, ґрунтується на наявності відповідних молекулярних маркерів. Її необхідно використовувати для навчання науковців, лікарів практичної охорони здоров'я та всього населення. Без накопичення такої інформації неможливі подальші розвиток молекулярної діагностики та розробка сучасних ефективних методів профілактики хвороб.

Значним досягненням біології кінця XX — початку XXI ст. є реалізація та завершення проекту “HUP”. Важливо, що при його виконанні отримані результати одразу ж набули застосування у практичній медицині. Ланкою, яка зв’язувала біологію з медициною, була саме молекулярна епідеміологія.

Слід ще раз наголосити на відмінності молекулярної епідеміології від клінічної епідеміології. Остання фокусує свої зусилля на конкретному хворому через виключно науковий аналіз результатів вивчення клінічного перебігу хвороби у великих групах хворих з аналогічним захворюванням [2]. Якщо молекулярна епідеміологія досліджує популяції, то клінічна епідеміологія — хворих, а в кращому випадку — групи ризику (рис. 13.2).

Молекулярну епідеміологію не слід також ототожнювати з генетичною епідеміологією. Остання спрямована на вивчення генетичних факторів ризику в розвитку спадкової патології. Молекулярна епідеміологія зосереджується на генах чутливості у взаємозв’язку з інфекційними агентами та чинниками довкілля, використовує генетичні та імунологічні маркери, вивчає мутації, цитогенетичні порушення, фенотипні прояви тощо. Вона застосовує маркери на всіх етапах вивчення розвитку захворювання. Так, для з’ясування схильності до того чи іншого захворювання використовують генетичні та інші молекулярні маркери, для виявлення безпосередньої причини хвороби — діючих агентів (різні провокуючі фактори та інфекційні

патогени, а для ефекту їх дії — мутації, антитіла) і, нарешті, специфічні маркери хвороби для встановлення діагнозу.

Необхідно також зазначити, що методи молекулярної епідеміології повинні відповідати певним вимогам:

- бути валідними, відтворюваними та стандартизованими;
- відповідати соціальним й етичним нормам;
- бути швидкісними та мало затратними;
- характеризуватися високою чутливістю і специфічністю.

Для успішного розвитку молекулярної епідеміології необхідна співпраця фахівців із різних галузей медичної науки (клініки, біостатистики, епідеміології, генетики людини, екології тощо).

У 80-ті роки минулого століття був започаткований ще один напрям епідеміологічних досліджень — епідеміологія довкілля, яка вивчає стан «здоров’я» довкілля, використовуючи біологічні маркери з метою визначення токсичності навколишнього середовища для організму людини. Серед маркерів «чутливості», «доз», «відповідної реакції» є і молекулярні маркери, які застосовуються в епідеміології залежно від конкретних завдань досліджень. При цьому звертається увага на необхідність співробітництва, по-перше, між дослідниками, які розробляють і пропонують нові методи, та епідеміологами для того, щоб порівнювати можливості запропонованих тестів з потребами практики; по-друге, між клініцистами, патологоанатомами й епіде-

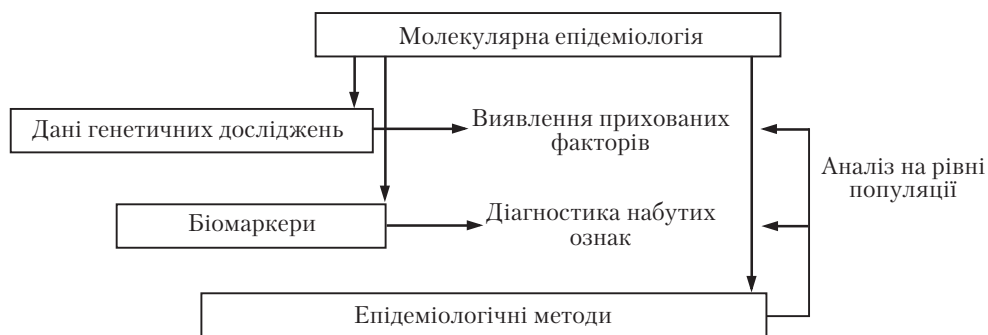


Рис. 13.2. Методологія молекулярно-епідеміологічних досліджень

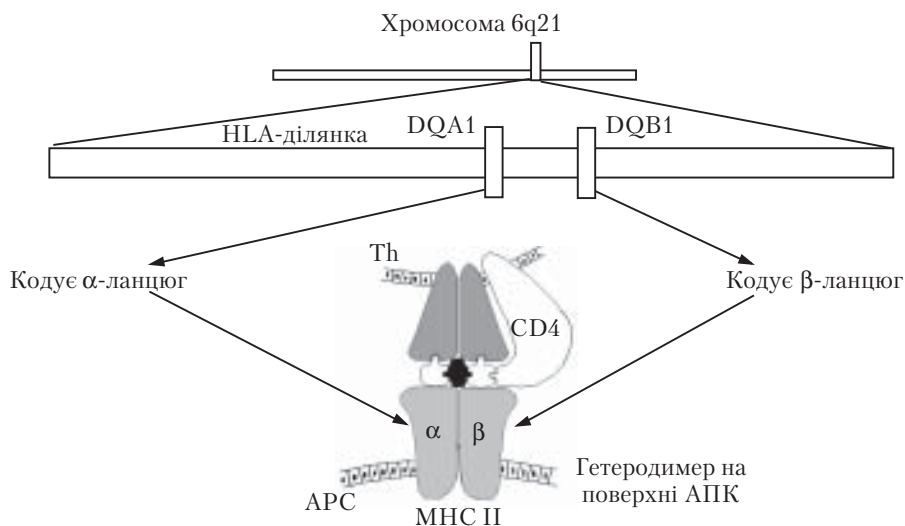


Рис. 13.3. Гени схильності до діабету 1 типу

міологами для повноцінного вивчення клінічного та біологічного матеріалу, зібраного при виконанні когортних досліджень [16].

Наочним прикладом є молекулярно-епідеміологічне дослідження діабету 1 типу. Відомо, що хвороба є наслідком ураження β -клітин підшлункової залози, які продукують інсулін. Пік хвороби припадає на пубертатний період, коли у пацієнтів виникають серйозні симптоми захворювання і вони потребують щоденних ін'єкцій інсуліну. Хвороба трапляється відносно рідко, але захворюваність на неї збільшується в багатьох країнах, наприклад у Фінляндії — понад 20 випадків на 100 000 населення.

Встановлено, що гени схильності до діабету 1 типу знаходяться в А-регіоні хромосоми 6q21 (рис. 13.3). Останнім часом пильну увагу дослідників привернули гени II класу (*HLA-DR*, *-DQ* та *-DP*), особливо *HLA-DQ*. Молекула білка *HLA-DQ* — гетеродимер, який складається з α -ланцюга (кодується *HLA-DQA1* геном) та β -ланцюга (кодується *HLA-DQB1* геном). *DQ*-гетеродимер презентує антиген Т-хелперам і залучає їх до імунної відповіді. За допомогою *HLA-DQ* молекулярного типування виявлено 8 варіантів алеля *HLA-DQA1* і 16 — алеля *-DQB1*. Відмінності в послідов-

ності нуклеотидів у ДНК позначаються на структурі молекул *DQ* і, відповідно, презентації антигену. Так, у групі хворих на діабет 1 типу кодування *-DQA1* алелями аргініну в 52-му положенні (*-DQA1*R*) і кодування *-DQB1* алелями будь-якої амінокислоти, крім аспарагінової, в 57-му положенні (*-DQB1*ND*) трапляється частіше, ніж у контрольній групі. У осіб, які мають два гаплотипи схильності (*DQA1*R* — *DQB1*ND* алелі) ризик розвитку діабету 1 типу збільшується в 15 разів. Співвідношення «доза-ефект» зберігається і за наявності одного із гаплотипів чутливості [10].

Абсолютний ризик розвитку діабету через 30 років у гомозигот за генами чутливості, згідно з розрахунком, становить 2,5 %. На рівні популяції ці особливості гаплотипу сприяють розвитку діабету приблизно у 75 % хворих в регіоні. Таким чином, розрахунок абсолютного та відносного ризику на основі виявлених молекулярних маркерів надав важливу інформацію. Саме результати абсолютного визначення ризику необхідні для розвитку стратегії охорони здоров'я, спрямованої на пошук шляхів запобігання захворюванню. Для цього необхідні знання стосовно загальної епідеміології хвороби в конкретній популяції, особливо показники її розповсюдження.

Об'єднання описових й аналітичних епідеміологічних досліджень є підґрунтям для профілактики та лікування. На цьому конкретному прикладі продемонстрована необхідність участі спеціалістів різних галузей у розв'язанні важливої проблеми практичної охорони здоров'я — профілактики та лікування діабету 1 типу, яких об'єднала молекулярна епідеміологія.

У різних розділах книги ми зупинилися лише на окремих основних напрямках розвитку молекулярної епідеміології. Насправді їх значно більше. Можна, наприклад, зазначити також практичне значення епідеміологічних досліджень надмірної маси та ожиріння із залученням даних молекулярної біології. Такі дослідження виконуються в країнах, де надмірну масу мають мільйони людей, але однозначних результатів поки що немає [7].

Ще один соціально значущий напрям у системі профілактики захворювань і підвищення якості життя — епідеміологія старіння [13]. Цей науковий напрям з'явився у другій половині XX ст. Численні дослідження дозволили зробити висновок, що стан здоров'я людей старшого віку є результатом сукупної дії факторів ризику, біологічних змін в організмі, пов'язаних зі старінням, прогресуючого розвитку доклінічних і клінічних ознак хвороби; взаємодія статусу старого організму з розвитком гострого захворювання, у тому числі інфекційного. Важливим висновком стало те, що більшість хвороб і навіть непрацездатність, які здавалося неминучі при старінні, фактично потенційно піддаються змінам на краще, а профілактика може суттєво змінити статус здоров'я, з яким живуть люди старшого покоління, зробити життя більш якісним. Значний внесок у розвиток епідеміології старіння зробила молекулярна епідеміологія. Роль генетичних особливостей у вікових хворобах наочно показана при ідентифікації генотипу аполіпопротеїну Е як головного фактора ризику для хвороби Альцгеймера після 60 років [1].

Люди, у яких знаходять аполіпопротеїн Е, мають більшу ймовірність розвитку хвороби Альцгеймера та більш ранній її початок (ризик розвитку хвороби у них сягає 30 %).

Ці результати можна використовувати як модель для вивчення етіології інших вікових захворювань, а також дослідження взаємодії «ген-довкілля» у осіб похилого віку.

Молекулярна епідеміологія — молода наука, яка має тісний взаємозв'язок з іншими спорідненими науковими напрямками, але вже здійснює помітний вплив як на фундаментальні дослідження, так і на практику охорони здоров'я. При цьому важливо дотримуватися наукового підходу щодо застосування епідеміологічних методів у молекулярно-біологічних дослідженнях на рівні популяцій [25]. Наразі акцент досліджень зміщується від вивчення окремого гена-кандидата, який відповідає за чутливість стосовно певного чинника довкілля, до дослідження взаємодій «ген-ген», тобто вивчення генних мереж, що відповідають за певний шлях метаболізму [23; 24], оскільки відомо, що у процесі метаболізму ксенобіотиків наприкінці фази І можуть утворюватися реактанти, які виявляють більшу активність (канцерогенність), ніж вхідна речовина [25]. Генні мережі можуть містити сотні і тисячі генів [26], що посилює складність опису закономірностей взаємодії в системі «ген-довкілля».

Сьогодні молекулярна епідеміологія знаходиться на етапі вивчення ролі окремих генів або груп генів, що будь-яким чином пов'язані з виникненням і розвитком певних хвороб, а також розповсюдженості поліморфізмів зазначених генів у популяціях [27].

Наступним етапом розвитку молекулярної епідеміології, на нашу думку, є вивчення генних механізмів взаємодії у системах «людина-довкілля» та «хазяїн-патоген-довкілля».

Відомо, що організм людини як представника ссавців у процесі еволюції виробив механізм підтримки гомеостазу, постійно взаємодіючи з фактором навколишнього середовища. Ще у 70-ті роки XX ст. було описано компоненти, які формують механізми підтримки гомеостазу. З-поміж них важливу роль відіграє генетичний апарат організму, який забезпечує його структурний гомеостаз. Проте шляхи цього

контролю у деталях на той час не були вивчені. Наразі розроблено нові молекулярно-генетичні технології, виникли наукові напрями (геноміка, біоінформатика та ін.), стали відомі тонкі механізми генного контролю гомеостазу.

У контексті проблеми, яку ми розглядаємо, це стосується, в першу чергу, ролі генів «довкілля», генів метаболізму ксенобіотиків та ін. Нині зрозуміло, що ризик виникнення хвороби реалізується в її розвиток при взаємодії певних генів, рідше — одного гена (на рівні цілісного організму) та чинників довкілля, способу життя, шкідливих звичок. Розвиток хвороби розпочинається в разі ушкодження гомеостазу на клітинному, органному, а потім організменому рівнях (рис. 13.4). Зважаючи на те, що практично всі гени працюють у взаємодії з іншими генами (генна мережа), то порушити гомеостаз організму дуже складно.

При інфекційних, паразитарних хворобах система взаємодії «людина-довкілля» доповнюється ще одним учасником — патогеном (рис. 13.5). Для підтримки гомеостазу хазяїна (людини) важливе значення має і його взаємодія з патогеном. Особливості генотипу патогену відіграють свою роль не тільки у виникненні хвороби, але й в успішності антибактеріальної (проти-вірусної, протипаразитарної) терапії. Чин-

ники довкілля, у свою чергу, впливають на патогени як безпосередньо, так і опосередковано через організм хазяїна (залежно від місця знаходження патогену). Стійкість організму людини залежить від роботи не тільки генів імунного контролю, але й генів чутливості до певного патогену. Оскільки у виникненні хвороби важлива участь усіх учасників системи, то завданням молекулярної епідеміології є вивчення внеску кожного з них у ризик розвитку патологічного процесу [28].

Для проведення молекулярно-епідеміологічних досліджень, аналізу отриманих результатів і формування відповідних рекомендацій лікарям необхідна дійова інфраструктура. Більшість розвинутих країн пройшли етап її формування. В узагальненому вигляді вона побудована так (рис. 13.6). На першому етапі відпрацьовується взаємодія між клініками та спеціалізованими молекулярно-генетичними лабораторіями. У цих лабораторіях виконують відповідні дослідження, результати яких вносять до бази даних геномних сиквенсів. Заклади охорони здоров'я формують електронні історії хвороб і схеми лікування при різних захворюваннях.

Зазначені структури взаємодіють з експертною групою, яка збирає необхідні для молекулярно-епідеміологічних досліджень показники, виділяє корисну інфор-

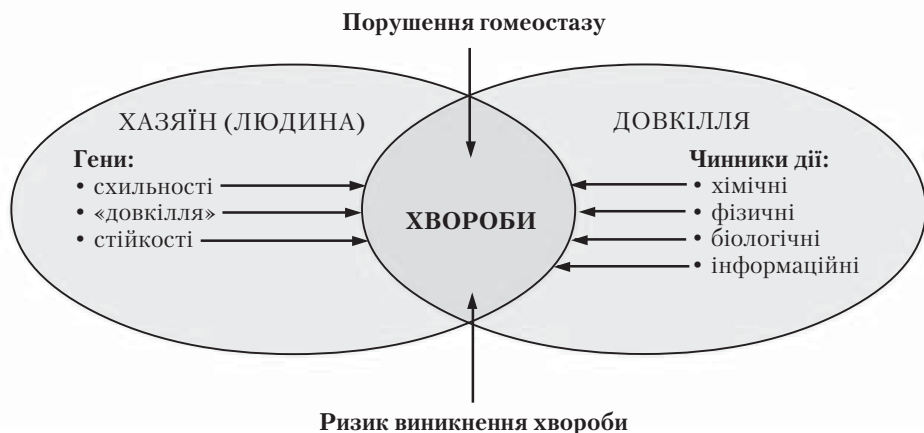


Рис. 13.4. Роль взаємодії «хазяїн–довкілля» у детермінації ризику виникнення хвороби



Рис. 13.5. Взаємодія у системі «людина–довкілля–патоген»

мацію, піддає її гомогенізації й алгоритмізації. Отримані в результаті проведеної роботи дані схематизуються й архівуються.

Експертна група разом із співробітниками медичних закладів і молекулярно-генетичних лабораторій публікує результати досліджень, а також здійснює їх семантичну адаптацію.

Семантично опрацьовані випадки захворювань направляються в експертну мережу, де відбувається обмін подібною інформацією, перевіряються результати досліджень і формується база даних генної онтології, а також семантично поповнюються бази даних.

Використовуючи постійно поповнювані бази даних про випадки захворювань і відповідні гени, молекулярні епідеміологи разом з іншими зацікавленими спеціалістами встановлюють молекулярний профіль схильності до певної хвороби й особливостей її перебігу. На підставі цього вони приймають узгоджене рішення про форму-

вання молекулярно-клінічного патерна хвороби. У цьому науковому центрі проходить обмін досвідом, аналізуються відтворення і валідність біомаркерів, приймаються відповідні рішення та рекомендації стосовно профілактичних заходів.

Створення зазначених структур та їх функціонування, зрештою, необхідні для роботи лікарів на місцях. Для цього створюються і удосконалюються портативні прилади, які значно спрощують і полегшують тестування пацієнта за місцем проживання, а також допомагають діагностувати та ідентифікувати схильність до різних захворювань на підставі молекулярних технологій. Лікар, який працює у своїй медичній установі, направляє результати молекулярного тестування та інформацію з історії хвороби до центру семантичного архівування історій хвороб свого регіону (країни). Там вони опрацьовуються, вносяться до бази даних, а експертна група приймає рішення про рекомендації щодо виконання профілактичних заходів.

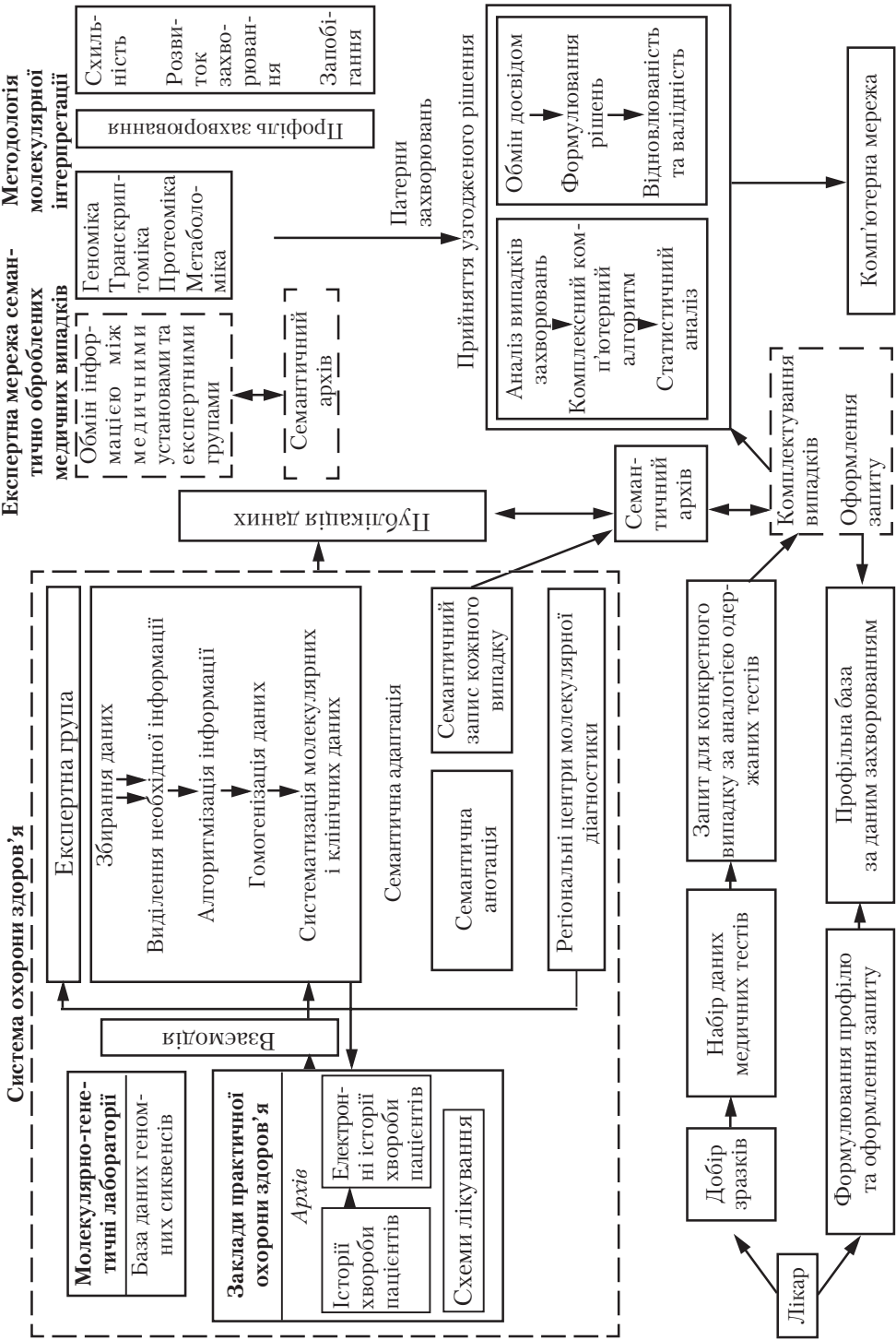


Рис. 13.6. Інфраструктура молекулярно-епідеміологічних досліджень

Для виконання подібних масштабних молекулярно-епідеміологічних досліджень в Україні необхідно розробити і реалізувати державну Програму, спрямовану на молекулярно-генетичний моніторинг найбільш поширених захворювань в країні, створення банку відповідної інформації та розробку заходів комплексної профілактики тієї чи іншої хвороби.

Спіраючись на досвід інших країн та враховуючи чинну медичну інфраструктуру України, мережу наукових установ і навчальних медичних закладів, Програму можна реалізовувати поетапно, розв'язуючи такі завдання.

I eman

1. Організувати регіональні спеціалізовані лабораторії для молекулярного тестування.

2. Розробити систему створення електронних історій хвороб.

3. Створити регіональні експертні групи з молекулярної епідеміології для збирання й обробки результатів молекулярно-генетичних та клінічних досліджень, алгоритмізації інформації.

4. Створити координаційну експертну групу з молекулярної епідеміології при МОЗ України з участю НАМН України та інших міністерств.

II eman

1. Створити національний Реєстр генетичного поліморфізму генів схильності до соціально значущих захворювань.

2. Розробити алгоритми предиктивного молекулярного моніторингу та комплексної профілактики захворювань у людей з генетичною схильністю до них. За-

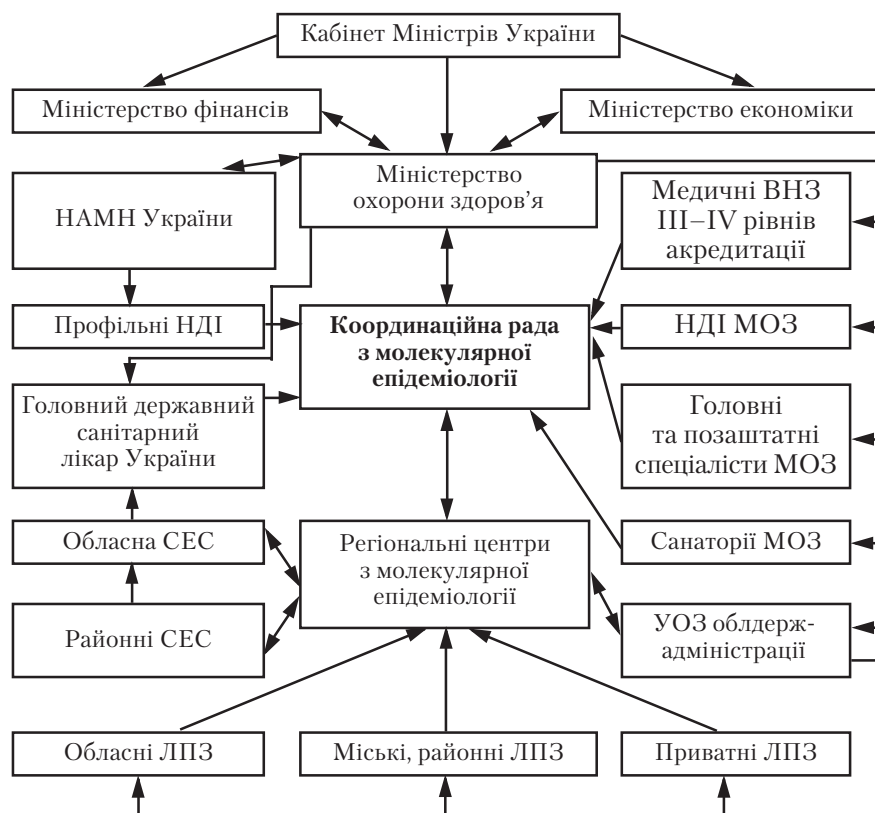


Рис. 13.7. Можлива організаційна структура програми молекулярно-генетичного моніторингу в Україні

твердити відповідні нормативні документи.

3. Розробити і запровадити в практику системи охорони здоров'я генетичні паспорти.

Безумовно, для реалізації цієї Програми необхідні фінансові витрати для закупівлі сучасного обладнання, реактивів, створення комп'ютерних програм. У разі виконання цієї Програми слід очікувати на важливі практичні результати. Перш за все, це створення національного Реєстру генетичного ризику та впровадження системи генетичного паспорту у практичну медицину, що дозволить розробляти індивідуальні програми подовження життя та його якості в осіб певних груп генетичного ризику. Безумовно, більш ефективним стане використання фінансових ресурсів у системі охорони здоров'я.

Молекулярно-епідеміологічні дослідження в Україні проводяться, але вони не мають системного характеру і є, як правило, науково спрямованими. У кращому разі, дані нагромаджуються у вузькопрофільних НДІ НАМН і не знаходять подальшого розповсюдження, перевірки та розробки комплексних профілактичних заходів на рівні окремих індивідів і популяцій в цілому. Координаційна рада, яка буде створена в разі затвердження Програми, повинна проаналізувати напрацьовані українськими дослідниками наукові результати і використовувати їх як підґрунтя для подальшої роботи. Як один із можливих варіантів може бути така структура, яка могла б виконувати Програму (рис. 13.7).

Корисним також буде використання комп'ютерної програми EpiInfo. Це продукт, що розповсюджується ВООЗ безкоштовно і дозволяє систематизувати епідеміологічну інформацію. Практично за кілька хвилин в EpiInfo можна створити основу для потужної бази даних з багатьма файлами і типами записів. EpiInfo допоможе також провести статистичну обробку матеріалу та скласти звіт [29].

Співпраця із закордонними науковими установами, лабораторіями, які вже займаються молекулярно-епідеміологічними дослідженнями, як показав наш досвід [30], також може стати однією з рушійних сил розвитку молекулярної епідеміології в Україні.

Список літератури

1. Geisler S. A. GSTMI, GSTTI, and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: mini-HuGE review / S. A. Geisler, A. F. Olshan // *Am. J. Epidemiol.* — 2001. — Vol. 154. — P. 95-105.
2. *Incomplete* overlapping of biological, clinical and environmental information in molecular epidemiological studies: a variety of causes and a cascade consequences / M. Porta, N. Malats, J. Vioogie [et al.] // *J. Epidemiol. Commun. Health.* — 2002. — Vol. 56. — P. 734-738.
3. Fryer A. A. Interactions between detoxifying enzyme polymorphisms and susceptibility to cancer / A. A. Fryer, P. W. Jones // *Metabolic polymorphisms and susceptibility to cancer*; ed. Vineis Petal. — Lyon (France): International Agency for Research on Cancer, 1999. — P. 303-322.
4. Furberg A. H. Molecular epidemiology, biomarkers, and cancer prevention / A. H. Furberg, C. B. Ambrosone // *Trends Mol. Med.* — 2001. — Vol. 7. — P. 517-521.
5. *The use of common genetic polymorphisms to enhance the epidemiologic study of environmental carcinogens* / N. Rothman, S. Wacholder, E. Caporaso [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2001. — Vol. 1471. — P. 1-10.
6. Wacholder S. Counterpoint: bias from population stratification is not a major threat to the validity of conclusions from epidemiological studies of common polymorphisms and cancer / S. Wacholder, N. Rothman, N. Caporaso // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2002. — Vol. 11. — P. 513-520.
7. *Mismatch repair genes hMLH1 and hMSH2 and colorectal cancer: a HuGE review* / R. J. Mitchell, S. M. Farrington, M. G. Dunlor [et al.] // *Am. J. Epidemiol.* — 2002. — Vol. 156. — P. 885-902.
8. *Associations between dietary intake and microsatellite instability in colon tumors* / M. L. Slattery, K. Anderson, K. Curtin [et al.] // *Int. J. Cancer.* — 2001. — Vol. 93. — P. 601-607.
9. *Associations between dietary intake and Ki-ras mutations in colon tumors: a population — based study* / M. L. Slattery, K. Curtin, K. Ma [et al.] // *Cancer Res.* — 2000. — Vol. 60. — P. 6935-6941.

10. Clayton D. Epidemiological methods for studying genes and environmental factors in complex diseases / D. Clayton, P. M. McKeigue // *Lancet*. — 2001. — Vol. 358. — P. 1356-1360.
11. Coughlin S. S. Glutathione S-transferase polymorphisms and risk of ovarian cancer : a HuGE review / S. S. Coughlin, I. J. Hall // *Genet. Med.* — 2002. — Vol. 4. — P. 250-257.
12. Fruit and vegetable intakes and the risk of colorectal cancer in the Breast Cancer Detection Demonstration Project follow-up cohort / A. Flood, E. M. Velie, N. Chatterjee [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2002. — Vol. 75. — P. 937-943.
13. Robien K. M. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk : a HuGE mini-review / K. Robien, C. M. Ulrich // *Am. J. Epidemiol.* — 2003. — Vol. 157. — P. 571-582.
14. Khoury M. J. The human genome epidemiology network (HuGENet) / M. J. Khoury, J. S. Dorman // *Am. J. Epidemiol.* — 1998. — Vol. 148. — P. 1-3.
15. Тарасевич И. В. Актуальные проблемы молекулярной эпидемиологии и перспективы их решения / И. В. Тарасевич, И. А. Шагинян // Материалы VIII Всероссийского съезда эпидемиологов и паразитологов : сб. статей в 4 томах. Т. 1. — М. : ООО «Росинэкс», 2002. — С. 106-107.
16. Беляков В. Д. Эпидемиология : учебник / В. Д. Беляков, Р. Х. Яфаев. — М. : Медицина, 1989. — 416 с.
17. Флетчер Р. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины / Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер ; пер. с англ. — М. : МедиаСфера, 1998. — 352 с.
18. Gann P. H. Biological markers in environmental epidemiology : constraints and opportunities / P. H. Gann, D. L. Davis, F. Perera ; ed. R. G. Tardiff, B. Goldstein. — N.-Y. : J. Wiley&Sons LTD, 1991.
19. Dorman J. S. HLA-DQ locus of the human leucocyte antigen complex and type I diabetes mellitus : a HuGE review / J. S. Dorman, C. N. Bunker // *Epidemiol. Rev.* — 2000. — Vol. 22. — P. 218-227.
20. The epidemiology of overweight and obesity : public health crisis or moral panic? / P. Campos, A. Saguy, P. Ernsberger [et al.] // *Int. J. Epidemiol.* — 2006. — Vol. 35. — P. 55-60.
21. Fried L. P. Epidemiology of aging / L. P. Fried // *Epidemiol. Rev.* — 2000. — Vol. 22. — P. 95-106.
22. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: a meta-analysis / L. A. Farrer, A. Cupples, L. Haines [et al.] // *JAMA*. — 1997. — Vol. 278. — P. 1349-1356.
23. Экогенетический аспект полифакторных заболеваний / В. В. Ляхович, В. А. Вавилин, С. И. Макарова, А. Ю. Гришанова // Вестник ВОГиС. — 2006. — Т. 10, № 3. — С. 514-519.
24. Shrohman R. Maneuvering in the complex path from genotype to phenotype / R. Shrohman // *Science*. — 2002. — Vol. 296. — P. 701-703.
25. Кресюн В. И. Фармакогенетические основы взаимодействия организма и лекарств / В. И. Кресюн, Ю. И. Бажора. — Одесса : Одесский медуниверситет, 2007. — 164 с.
26. Генные сети / Н. А. Колчанов, Е. А. Ананько, Ф. А. Колпаков [и др.] // Молекулярная биология. — 2000. — Т. 34, № 4. — С. 533-544.
27. The human genome project is complete. Do we develop a handle for the pomp? / J. Little, M. J. Khory, L. Bradley [et al.] // *Am. J. Epidemiol.* — 2003. — Vol. 157. — P. 667-673.
28. Slattery M. L. The science and art of molecular epidemiology / M. L. Slattery // *J. Epidemiol. Commun. Health*. — 2002. — Vol. 56. — P. 728-729.
29. Годлевский Л. С. Эпидемиологические исследования: пакет прикладных программ "EpiIndo" : учеб.-метод. пособие / Л. С. Годлевский, И. В. Смирнов, В. А. Голяк. — Одесса : ОГМУ, 2009. — 22 с.
30. Molecular epidemiology and prevalence of mutations conferring rifampicin and isoniazid in M. tuberculosis strains from the southern Ukraine? / V. V. Nikolayevskyy, T. J. Brown, Y. I. Bazhora [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect. Dis.* — 2006. — Vol. 13, № 2. — P. 129-138.

Додаток

Перелік генів, асоційованих із підвищеним ризиком захворювання

Ген	Код за ОМІМ	Назва гена	Алелі	Згадування в тексті, стор.
<i>ABCA1</i>	*600046	Ген переносника холестерину типу A1	Cys1417Arg, Gln527Arg, ivs24ds	112, 119
<i>ABCC8</i>	*600509	Ген переносника холестерину типу C8	del екзон а, с; Gly716Val; Phe138del; Arg1353Pro; Arg1421Cys та ін.	143
<i>ACE</i>	*106180	Ген ангіотензинперетворювального ферменту-1	ins/del; Pro1199Leu; Tyr266Ter; 4-BPdel, 1319TGGA	60, 112,124, 133, 233
<i>ADD1</i>	*102680	Ген адуцину	Gly460Trp	112, 125
<i>ADH2</i>	*103720	Ген алкогольдегідрогенази 1В	Arg48His	267
<i>ADRB1</i>	*109630	Ген рецептора алкогольдегідрогенази b-1	Arg389Gly; Ser49Gly	112, 123, 133
<i>ADRB2</i>	*109690	Ген рецептора алкогольдегідрогенази b-2	Arg166Gly; Gln27Glu; Thr169Ile; -47C-T	112, 123, 133, 136
<i>ADRB3</i>	*109691	Ген рецептора алкогольдегідрогенази b-3	Trp64Arg	122, 136
<i>AGT</i>	*106150	Ген ангіотензину	Met235Thr; G-A-6; Arg375Gln; Glu202Ter; 1-BP del, 1290 T	112, 124, 133
<i>AGTR1</i>	*106165	Ген рецептора ангіотензину	166 A-C; 1-BP ins, Thr282Met	112, 124
<i>ALDH2</i>	*100650	Ген альдегіддегідрогенази-2	Glu504Lys	182, 267
<i>ALS2</i>	*205100	Ген ювенільного аміотрофічного латерального склерозу	1-BP del 138 A; 2-BP del 1425 AG; 2-BP del 1867 CT, 1-BP del 3742A; 10-BP del NT 1471; 2-BP del2660 AT; 1-BP del 4844T; Arg998Ter	153, 154
<i>ANXA5</i>	*31230	Ген анексину	C/T	112, 113
<i>APE1</i>	*107748	Ген апуринової ендонуклеази	D148E	267

Продовження додатку

Ген	Код за ОМІМ	Назва гена	Алелі	Згадування в тексті, стор.
<i>APOA1</i>	*107680	Ген аполіпопротеїну A1	Arg173Cys; Lys107Ter; Glu198Lys; Glu136Lys; Pro143Arg; Pro4Arg; Pro165Arg; Gly26Arg	112, 119
<i>APOB</i>	*107730	Ген аполіпопротеїну B	Asp1728Thr+ Ser729Ter; Arg1306Ter; 1-BP del FS1799Ter; Val1829Cys	112, 119
<i>APOC3</i>	*107720	Ген аполіпопротеїну C3	Thr74Ala; Lys586Glu; Arg19Ter	112, 119
<i>APOE</i>	*107720	Ген аполіпопротеїну E	Arg158Cys; Glu3Lys; Arg136Ser; Arg145Cys; Ivs3AS, A-G, -1; 21-BP ins dup	112, 119, 148– 154
<i>APP</i>	*104760	Ген прекурсора амілоїд- протеїну b A4	Glu693Gln; Val1717Ile; Val717Phe; Val717Ile; Val717Gly; Ala692Gly; 2124 C-T та ін.	148, 149, 153
<i>BCL2</i>	*151430	Ген b-клітинної лімфоми-2	–	197
<i>BCL6</i>	*109565	Ген b-клітинної лімфоми-6	–	197
<i>CAPN10</i>	*605286	Ген калпаїну	Ivs3, 94852 G-A; ivs 13 g. 16378 G-T; ins/del 39-BP; g. 4841 T-C	143, 145
<i>CARD15</i>	*605956	Ген протеїну-15, що містить домен активації кінази	G908R; Leu1006 insC; N414S, P268S, R702W; T189M	95, 267
<i>CASP8</i>	*601763	Ген каспази-8	Arg248Trp; 2-BP del 1225 TG, Asp302His; 6-BP del, NT-652	188
<i>CBS</i>	*236200	Ген цистатіонін b-синтази	–	116, 216, 228, 229
<i>CCND2</i>	+123833	Ген цикліну D2	–	197
<i>CCR5</i>	*601373	Ген CC хемокін- рецептора -5	32-BP del, NT794; 1-BP del, Arg223Gln; Ala 335Val; Cys101Ter	62, 188

Ген	Код за ОМІМ	Назва гена	Алелі	Згадування в тексті, стор.
<i>CD14</i>	*158120	Ген антигену диференціації лімфоцитів CD14	–	112, 116, 134, 188
<i>CD36</i>	*173510	Ген антигену диференціації лейкоцитів CD36	Ile413Leu; Pro90Ser; T1264G; Phe253Leu; 1-BP del, 1444A; ivs3 (TG)12	112, 113
<i>CFTR</i>	*602421	Ген трансмембранного регулятора транспорту білка	Gln493 Ter; Arg117His; Ala455Glu; Phe508del; Ile507del; Gly551Asp; Arg553Ter; Ala559Thr; Arg560Thr та ін.	57, 62
<i>CHEK2</i>	*604373	Ген протеїну CHK2	Ile157Thr; Pro85Leu; Arg145Trp; 1-BP, del 1100C та ін.	188
<i>COMT</i>	+116790	Ген катехол-О-метил-трансферази	Val158Met; Ala72Ser	188
<i>CRP</i>	*123260	Ген С-реактивного білка	–	112, 116
<i>CSF1</i>	*120420	Ген колонієстимулювального фактора-1	–	112, 116
<i>CSF2</i>	*138960	Ген колонієстимулювального фактора-2	–	112, 116
<i>CTLA4</i>	*123890	Ген антигену цитотоксичних Т-лімфоцитів	Thr17Ala; 60A-G, 3' UTR	143–145
<i>CYBA</i>	*608508	Ген а-субодиниці цитохрому b	His72Tyr; 212 G-T; Gly24Arg; 10-KB del; 1-BP del 272 C та ін.	112, 116
<i>CYP11B2</i>	*124080	Ген стероїд 11/18 b-гідроксилази	Arg181Trp+Val386Ala; Val386Ala+Glu198Asp; Leu461Pro; Thr498Ala; Cys437Tyr;	125
<i>CYP19</i>	*107910	Ген ароматази	Arg365Gln; Arg435Cys; ivs6, T-C, +2; Arg375Cys та ін.	56, 228
<i>CYP1A1</i>	*108330	Ген арилвуглеводень-гідроксилази	A2455G; Ile462Val	233, 262, 263
<i>CYP1A2</i>	*124060	Ген поліпептиду 2 родини 1 цитохромів P450	C->734A	233, 242
<i>CYP2A6</i>	*122720	Ген кумарин-7-гідроксилази	Leu160His; Ser224Pro	242
<i>CYP2B6</i>	*123930	Ген поліпептиду 6 родини ІІВ цитохромів P450	G516T	242

Ген	Код за ОМІМ	Назва гена	Алелі	Згадування в тексті, стор.
<i>CYP2C</i>	*124020	Ген мефентоїну 4ϣ-гідроксилази	681G-A; Arg433Trp; Trp212Ter; Met1Val	242
<i>CYP2D6</i>	*124030	Ген поліпептиду 6 родини ІІВ цитохромів P450	Gly169Ter; Pro34Ser; Arg296Cys+Ser486Thr	242
<i>CYP2E1</i>	*124040	Ген поліпептиду 1 родини ІІЕ цитохромів P450	-1293G-C+-1053C_T; ivs6, 7632T-A	56, 242
<i>CYP3A</i>	*124010	Ген поліпептиду 4 родини ІІА цитохромів P450	a-g промотер	242
<i>DJ1</i>	*602533	Ген онкогену DJ1	Leu166Pro; Met261Ile; Asp149Ala; Ala39Ser; Glu64Asp; Glu163Lys та ін.	151–153
<i>DKC1</i>	*300126	Ген дискерину	Ala353Val; Ile38Thr; Phe36Val; Leu37del та ін.	188
<i>ECE1</i>	*600423	Ген ендотелін-конвертуючого ферменту-1	Arg742Cys; -338 C-A; -839 T-G	112, 123
<i>EDN1</i>	*131240	Ген ендотеліну	Lys198Asn	112, 123, 124, 133
<i>EDNRA</i>	*131243	Ген рецептора до ендотеліну-1	-231G	112, 121, 123, 133
<i>EGF</i>	*131530	Ген епідермального фактора росту	Pro1070Leu	112, 188
<i>eNOS</i>	*163729	Ген ендотеліальної NO синтази	Glu29Asp; -786 T-C	60, 61, 112, 123
<i>ESR2</i>	*601663	Ген b-рецептора до естрогенів	–	267
<i>F10</i>	+277600	Ген фактора Стьюарта — Прауера	Arg366Cys; Glu14Lys; Pro343Ser; Ser334Pro; ex7 TCCT-TCT та ін.	112, 113, 115
<i>F12</i>	*610619	Ген фактора Хагемана	Cys571Ser; 46 C-T; Arg353Pro та ін.	112, 113
<i>F13A1</i>	*134570	Ген a-субодиниці фактора стабілізації фібриногену	2-BP del 210 AG; Arg681His; Arg171Ter та ін.	112, 113
<i>F2</i>	+176930	Ген протромбіну	Glu157Lys; Arg271Cys; Arg98Trp та ін.	112, 113
<i>F3</i>	*134390	Ген тканинного тромбопластину	–	112, 113, 115
<i>F5</i>	*612309	Ген кофактора протеїну С (фактора Лейдена)	Arg506Gln; Arg306Gly; Arg306Thr	111, 112, 113

Ген	Код за ОМІМ	Назва гена	Алелі	Згадування в тексті, стор.
<i>F7</i>	+227500	Ген VII фактора згортання крові	Arg304Gln; Cys310Phe; Cys178Tyr та ін.	112, 113
<i>FABP2</i>	*134640	Ген кінцевого протеїну, що зв'язує жирні кислоти	–	112, 119
<i>FBR1</i>	*134797	Ген фібриліну	Arg1137Pro; 6354 T-C, ex51 del, Ile2118Ile; Gly1013Arg; Cys2307Ser та ін.	212
<i>FGA</i>	+134820	Ген а-поліпептидного ланцюга фібриногену	Asp7Asn; Gly12Val; Arg16Cys; Arg16His; Arg19Asn; Arg19Ser та ін.	112, 114, 115
<i>FGB</i>	+134830	Ген b-поліпептидного ланцюга фібриногену	ex 2 del; Arg14Cys; Ala335Thr та ін.	112, 114, 115
<i>FN1</i>	+135600	Ген рецептора до глюкокортикоїдів	Trp1925Arg; Leu1974Arg; Tyr983Cys	197
<i>GCCR</i>	*138040	Ген рецептора глюкагону	Gly40Ser	143
<i>GCK</i>	*138079	Ген глюкокінази	Glu279Ter; Arg186Ter; Thr228Met; Gly261Arg; Gly299Arg	142, 143
<i>GJA4</i>	*121012	Ген конексину-37	–	112, 126
<i>GMCSF</i> <i>GP1BA</i>	див. CSF2 *606672	Ген глікопротеїну 1b (глікокальцину)	Trp343Ter; 92-BP dup, Ser399-Thr911 dup; Gly233Val del 0/0	112, 114
<i>GSTM1</i>	*138350	Ген глутатіонтрансферази m1	Ile105+Al+a114; Val105+Ala114; Val105+Val114	56, 57, 233, 245, 262, 263, 267
<i>GSTP1</i>	*134660	Ген глутатіонтрансферази p1	Ile114Thr, Lys168Arg	197, 233, 245, 267
<i>GSTT</i>	*600436	Ген глутатіонтрансферази Q	–	56, 233, 245, 263, 267
<i>HIF1A</i>	*603348	Ген гіпоксія-індуцибельного фактора-1	–	112, 126
<i>HLA-A</i>	*142800	Ген комплексу гістосумісності класу 1A	–	63, 142, 143, 145, 266
<i>HNF4A</i>	*600281	Ген ядерного фактора гепатоцитів 4a	Gln268Ter; Arg154Ter; Arg127Trp та ін.	142, 143, 145, 146

Ген	Код за ОМІМ	Назва гена	Алелі	Згадування в тексті, стор.
<i>HSD11B2</i>	*218030	Ген 11- β гідроксистероїд- дегідрогенази	Arh213Cys; Arg208Cys; Arg337Cys; Tyr337del та ін.	125
<i>ICAM1</i>	*147840	Ген молекули міжклі- тинної адгезії	Lys29Met	112, 116
<i>IGF1</i>	*147440	Ген інсуліноподібного фактора росту-1 (сомато- медину С)	ex 4,5 del; Val44Met, T-A	112, 116, 188
<i>IL1A</i>	*147760	Ген інтерлейкіну 1a	—	112, 117
<i>IL8</i>	*146930	Ген інтерлейкіну-8	—	188
<i>INS</i>	+176730	Ген проінсуліну	Arg65His; His10Asp; Phe25Leu; Phe24Ser; Val3Leu; Arg65Leu та ін.	142–145
<i>IPF1</i>	*600733	Ген інсулін-промотор- ного фактора-1	1-BP del, fs123Ter; Asp767Asn; Gln59Leu; 3-BP ins, 243 CCG	143
<i>IRS1</i>	*147545	Ген субстрату рецептора до інсуліну	—	112, 117
<i>ITGB3</i>	*173470	Ген b-3 інтегрину	Arg143Gln; Arg489Gln; Leu33Pro; Arg214Gln; Asp119Tyr та ін.	112, 114
<i>KCNJ11</i>	*600937	Ген внутрішнього очис- ника калієвого каналу, підсімейство J, член 11	Leu147Pro; Arg201His; Val59Met; Arg201Cys та ін.	143
<i>LDLR</i>	*606945	Ген рецепторів ЛПНЩ	Gln12Ter; Asp26, Gly27 del; Trp66Gly та ін.	112, 119
<i>LEP</i>	*164160	Ген лептину	1-BP del, fs147Ter; Arg105Trp	122, 188
<i>LEPR</i>	*601007	Ген рецептора лептину	Gln23Arg; ivs16, G-A, +1; Gln 223Arg; Lys109Arg; Lys656Asn	122, 188
<i>LIPC</i>	+151670	Ген печінкової ліпази	Thr383Met; нітрон 1, TA; Ser267Phe та ін.	112, 120
<i>LIPG</i>	*603684	Ген ендотеліальної ліпази	—	112, 120
<i>LMO2</i>	*180385	Ген ромботину-2	—	197

Ген	Код за ОМІМ	Назва гена	Алелі	Згадування в тексті, стор.
<i>LOX1</i>	+602601	Ген лектиноподібного рецептора до окиснених ЛПНЩ	Lys167Asn; 1852 C-T, 3ʹ UTR	112, 120
<i>LPA</i>	+152200	Ген аполіпопротеїну а	Arg21Ter, -773A; +93C; +121 A	112, 120
<i>LPL</i>	+609708	Ген ліпопротеїнілази	Ala176Thr; Gly1886Glu; ins/del та ін.	112, 120
<i>LRP1</i>	*107700	Ген протеїну-1, зв'язаного з рецептором до ЛПНЩ	–	112, 120, 197
<i>LRRK2</i>	*609007	Ген дардарину	Arg1441Gly; Ter1699Cys; Arg1441Cys та ін.	151, 153
<i>MAPT</i>	+157140	Ген t-білка, асоційованого з ліпопротеїнами	Pro201Leu; Gly272Val; Arg406Trp	152, 153
<i>MBL2</i>	*154545	Ген лектину, що зв'язує манозу	Gly54Asp; Gly57Glu; Arg52Cys	117
<i>MDR1</i>	*171050	Ген мультирезистентності до лікарських засобів (b-глікопротеїну-1)	Gky185Val; 3435-T; Ala893 Ser/Thr	238
<i>mEPHX1</i>	+132810	Ген мікосомальної епоксигідролази	T337C; Tyr113His; His139Arg; -4238 T-A; - 2557 C-G	56, 57, 263
<i>MMP1</i>	*120353	Ген матричної метало-протеїнази-1	1607 G/GG	126
<i>MMP12</i>	*601046	Ген матричної метало-протеїнази-12	–	126
<i>MMP3</i>	*185250	Ген матричної метало-протеїнази-3	- 1171 SA/6A	126
<i>MMP9</i>	*120361	Ген матричної метало-протеїнази-9	Met1Lys	126
<i>MTHFR</i>	*607093	Ген метилтетрагідрофолатредуктази	1298 A-C; Gln249Ala; Met581Ile; Arg184Ter	59, 112, 117, 188, 216, 233
<i>NAT2</i>	*612182	Ген N-ацетилтрансферази-2	Arg197Gln; Glu286Glu; Ile114Thr; Lys268Arg	56, 188, 195, 245, 262, 263, 267
<i>NEUROD1</i>	*601724	Ген нейрональної диференціації	Arg111Leu; 206 +C	143
<i>NOS3</i> <i>NPPA</i>	див. eNOS *108780	Ген прекурсора натрій-уретичного пептиду А	2-BP del, 456 AA	112, 125

Продовження додатку

Ген	Код за ОМІМ	Назва гена	Алелі	Згадування в тексті, стор.
<i>NPPB</i>	*600295	Ген прекурсора натрій-уретичного пептиду В	–	112, 125
<i>p53</i>	*191170	Ген білка пухлин p53	Pro72Arg; Arg249Ser; Pro72Arg та ін.	188
<i>PAI1</i>	*173360	Ген нексину	2-BP ins 4977 TA; 1-BPdel/ins 4G/5G; Ala15Thr	112, 114, 115
<i>PINK1</i>	*608309	Ген PTEN-індукованої кінази-1	Gly309Asp; Trp437Ter; Arg246Ter; His27Gln; Leu247Pro та ін.	151–153
<i>PON1</i>	*168820	Ген параоксонази-1	Gln192Arg; Leu55Met; -108 C-T	112, 117
<i>PON2</i>	*602447	Ген параоксонази-2	Cys311Ser; Ala148Gly	112, 117
<i>PPARA</i>	*170998	Ген проліфератора, що активує α-рецептори пероксисом	Leu162Val	112, 118
<i>PPARG</i>	*601487	Ген проліфератора, що активує γ-рецептори пероксисом	Pro12Ala; Arg288His; Val290Met; His449His та ін.	112, 122
<i>PRKN</i>	*6052544	Ген паркіну	Екзон 3-7 del; 4 del; Thr240Arg; Gln311Ter; Ala82Glu та ін.	151, 153
<i>PROC</i>	*612283	Ген білка С	Arg306Ter; Trp402Cys; Arg12Trp та ін.	112, 114
<i>PROS1</i>	*176880	Ген білка S	Ser460Pro; Asn217Ser; Lys155Glu	112, 114
<i>PSEN1</i>	+104311	Ген пресенеліну-1	Met146Leu; His163Arg; Ala246Glu	148–150, 153
<i>PSEN2</i>	+600759	Ген пресенеліну-2	Asn141Ile; Met239Val; Asp439Ala; Thr430Met; Thr122Pro та ін.	148–150, 153
<i>PTGIS</i>	*601699	Ген простагландин-12 синтази	ins 9, T-C, +2	112, 123
<i>PTGS2</i>	*600262	Ген простагландин- ендопероксид-синтази-2	–	123
<i>PTPN22</i>	*600716	Ген протеїн-тирозин фосфатази	Arg620Trp; -1123 C-G	136, 144, 145
<i>REN</i>	*179820	Ген реніну	Arg387Ter; Arg49Ter; Arg230Lys та ін.	112, 124
<i>SAA1</i>	*104750	Ген сироваткового амілоїду-1	Gly72Asp; Val52Ala	112, 118

Ген	Код за ОМІМ	Назва гена	Алелі	Згадування в тексті, стор.
<i>SCARB1</i>	*601040	Ген CD36 антиген-подібного білка	–	112
<i>SCNN1B</i>	*600760	Ген b-субодиниці Na ⁺ -каналу	Arg594Ter; Pro616Leu; Gly37Ser та ін.	112, 125
<i>SCYA3</i>	*182283	Ген CC-повтору хемокину	–	197
<i>SELE</i>	*131210	Ген селектину E	His468Tyr	112, 118
<i>SELP</i>	*173610	Ген селектину P	Thr715Pro; Val640Leu	112, 114
<i>SELPLG</i>	*600738	Ген глікопротеїну — ліганду селектину	–	112, 114
<i>SLC2A1</i>	*138140	Ген переносника глюкози	Lys456Ter; Tyr449Ter; Lys256Val; Arg286Leu; Gly91Asp та ін.	143
<i>SNCA</i>	*163890	Ген синуклеїну	Ala53Thr; Ala30Pro; Glu46Lys та ін.	151, 153
<i>SOD1</i>	*147450	Ген супероксиддисмутази-1	Gly37Arg; Leu38Val; Gly41Ser; Gly41Asp; His43Arg; Gky85Arg та ін.	89, 153, 154
<i>SRD5A2</i>	*607306	Ген стероїд 5a-редуктази 2	Arg246Trp; 3-BP del, Met157del; Leu55Gln; Gly115Asp та ін.	188
<i>SREBF1</i>	*184756	Ген стероїдорецепторного елемента — зв'язуючого транскрипційного фактора 1	–	112, 120
<i>TAFI</i>	*313650	Ген РНК полімерази	sva ins	115
<i>TCF1</i>	*142410	Ген транскрипційного фактора 1	1-BP ins, 872C; Pro447Leu; 1-BPdel, Tyr122Cys; Arg272His та ін.	142, 143, 146
<i>TCF2</i>	*189907	Ген транскрипційного фактора 2	Arg177Ter; 75-BP del, NT409; 5-BP del; Glu101Ter; 1-BP del та ін.	143
<i>TERT</i>	+187270	Ген зворотної транскриптази теломери	Ala202Thr; His412Tyr; Val694Met	188
<i>TFPI</i>	*152310	Ген інгібітора шляху тканинного фактора	–	112, 115
<i>THBD</i>	*188040	Ген тромбомодуліну	Asp468Tyr; Ala25Thr; Ala43Thr; Pro495Ser та ін.	112, 115
<i>THPO</i>	*600044	Ген тромбопоєтину	ivs 3, G-C, +1; 1-BP del, 3252C, 516 G-T	112, 115

Закінчення додатку

Ген	Код за ОМІМ	Назва гена	Алелі	Згадування в тексті, стор.
<i>TNFA</i>	*191160	Ген фактора некрозу пухлин а	Leu29Ser; Arg32Trp; -376 G-A, 308 G-A; 850 C-T; -863 C-A	57, 58, 112, 118, 133, 134, 172, 188, 267
<i>VDR</i>	*601769	Ген рецептора до вітаміну D3	Gly33Asp; Arg73Gln; Tyr292Ter; Arg77Gln; Arg47Gln; Gln149Ter та ін.	59, 112, 125
<i>VEGF</i>	+192240	Ген фактора росту ендотелію	-634 G-C; -2758 C-A	112, 121, 124, 126, 134
<i>XRCC1</i>	*194360	Ген білка-1 регенерації ДНК внаслідок впливу іонізуючої радіації	Arg399Gln (G>A)	188, 267
<i>XRCC3</i>	*600675	Ген білка-3 регенерації ДНК внаслідок впливу іонізуючої радіації	Thr241Met; ivs5, A-G, -14	188

Предметний покажчик

Аддукти 48, 64, 262

- ДНК 262
- альбуміну 26, 262
- гемоглобіну 64, 262
- Алель 109, 110, 143, 145, 150, 206, 232, 233, 288
- Апроксимація 40

Безплідність 56, 57, 202, 204, 205, 218, 231, 233

- Біоетика 278–280, 284
- Біоінформатика 48, 64, 80, 82, 154, 218, 288, 292
- Біомаркери 48, 49, 51, 97, 103, 124, 188, 189, 262, 265
- ефекту 48, 188, 192, 262
- діагнозу 197
- дози 188, 189, 262
- чутливості 188, 192, 262
- прогнозу 188, 264
- Біотрансформація ксенобіотиків 48, 50, 55, 87, 232, 291, 292
- Біочип 89, 91

Відносний ризик 34, 35, 41, 51, 193, 197, 262

- Відношення шансів 30–33, 37, 38, 40
- Внутрішньолікарняна інфекція 180
- Вроджені вади розвитку 205, 208, 210, 211, 225–228
- ВІЛ-інфекція 32, 124, 174–176, 243
- генотипування 174
- гени схильності 124
- Вірусний гепатит 46, 49, 176–179, 192
- «Випадок-батьки» 206, 207
- «Випадок-контроль» 17, 18, 20, 40, 41, 46, 49–51, 96, 97, 135, 136, 147, 149, 203, 206–208, 227, 288

Гемофілія 209

- Ген-кандидат 48, 149
- Генетична медицина 20, 52, 53
- Генетичний моніторинг 52, 211, 295
- Генетичний паспорт 54, 77–79, 87, 92, 102, 109, 154, 282, 283, 296
- Генні мережі 79, 80, 86, 87, 101, 105, 291–293, 295
- Геноміка 58, 64, 76, 79, 80, 90, 94, 173, 242
- Генотип 95, 96, 99, 205–207, 291, 292

Дані

- бінарні 29, 30
- номінальні 30
- порядкової шкали 30
- рангові (див. порядкової шкали) 30
- шкали найменувань (див. номінальні) 30
- шкали відношень 30
- Деонтологія 18, 278
- Детоксикація ксенобіотиків (див. Біотрансформація ксенобіотиків) 48, 50, 55, 87, 232, 291, 292
- Дефекти невральної трубки (див. *Spina bifida*) 60, 210, 213, 215
- Діабет цукровий 53–55, 76, 78, 81, 86, 103, 104, 109, 135, 138, 147, 282, 290
- Діагностична цінність 38, 39
- Діагностика 38, 45, 47, 53–55, 59, 79, 85–87, 89, 92
- донозологічна 49, 87
- молекулярна 82
- передімплантаційна 69, 79
- пренатальна 79, 87
- Дизайн дослідження 94, 95, 97, 103, 104, 124, 137, 227
- Дихотомізація 29
- Довірчий інтервал 32–34
- Довкілля 19, 20, 31, 47, 57, 98, 254–268, 292, 293

Доказова медицина 26, 33, 47, 51, 90, 137, 154, 155

Доказовість 51, 94, 149

Екогенетика 259, 264

Електрофорез

— двовимірний 83, 91

— капілярний 101

Ендометріоз 56, 87, 202

Епідеміологія

— клінічна 10–13, 19, 26, 287, 289

— молекулярна 45, 202, 289

— генетична 19, 46, 202

— екологічна 254

ЕПР-стрес 140, 141

Етногеноміка 79

Євгенізм 279

Євгеніка 279, 283

Зниження ризику 34, 192

— абсолютного 34

Ізоелектрофокусування 101

Канцерогени 45, 48, 54, 98, 187, 188, 191, 192

Кардіопротеом 85

Когортне дослідження 17, 51, 96, 97, 147

Ксенобіотики 50, 56, 227

Латеральний аміотрофічний склероз 152–154

Малярія 179

Мас-спектрометрія 83, 86, 102

Метааналіз 111, 126, 136, 247

Метаболоміка 94

Мікросателітна нестабільність 64, 99

Мікросеквенування 89, 101

Мікрочип 78, 82, 87–89, 101, 167, 197, 201, 231, 261

Міодистрофія Дюшенна 209

Муковісцидоз 53, 57, 70, 209

Мультифакторні захворювання 87, 99, 100, 109, 110, 138, 148, 202, 209, 214

Науково обґрунтована практика 13, 18, 19, 26

Ожиріння 108, 111, 118, 135, 136, 205, 218, 267, 291

Онкологічні захворювання

— рак молочної залози 40, 41, 53, 57, 79, 267, 283

— рак легень 56–58, 280

— рак кишечника 195, 267

— рак передміхурової залози 53, 59

Остеопороз 13, 59, 267

Повногеномна гібридизація 49

Повногеномна експресія генів 100, 101

Полімеразно-ланцюгова реакція 52, 100, 180, 190, 191, 198

Порівняльна геномна гібридизація 100

Предиктивний моніторинг (див. Прогнозування) 9, 10, 12, 13, 45, 47, 49, 51, 56, 57, 86, 87, 94, 96, 154, 180, 188, 198, 255, 259, 260

Пренатальний скринінг (див. Пренатальна діагностика) 79, 87

Прогнозування (див. Предиктивний моніторинг) 9, 10, 12, 13, 45, 47, 49, 51, 56, 57, 86, 87, 94, 96, 154, 180, 188, 198, 255, 259, 260

Проспективне дослідження 17, 40, 134, 147

Протеом 85, 261

Протеоміка 94

Рандомізоване контрольоване клінічне спостереження 13, 17, 18, 33, 42, 146

Репродуктивне здоров'я 202

Ретроспективне дослідження 17, 18

Саузерн-блот 190

Саузерн-гібридизація 164, 190, 191

Секвенування 76–81

Сиквентс 80

Синдром антифосфоліпідний 63, 231

— Вільямса — Бурена 218

— Дабіна — Джонсона 239

— Дауна 147, 210

— Клайнфельтера 217, 218

— Коена 136

— Лі — Фраумені 193, 194

— Марфана 212

— ламкої Х-хромосоми 209

— Пейтца — Єгерса 194

— Тернера 217, 218

Систематичний огляд 14–17, 33, 36

- СНІД 32, 46, 59, 62, 175, 176, 201, 210, 279, 282
 Соціально-гігієнічний моніторинг 98
 Специфічність 38, 39
 Споліготикування 165–168, 171
 Спонтанні аборти 202, 215
 Старіння 55, 86, 202, 291
 Статистичний аналіз
 — динамічний 29, 30
 — дискримінантний 29–31
 — дисперсійний 30
 — кластерний 30
 — кореляційний 30
 — регресійний 30
- Тератогени** 208–211, 225–228
 Токсикогенетика 258
 Токсикогеноміка 258, 260
 Транскриптоміка 94
 Тромбофілія 225, 231–233
 Туберкульоз 46, 62, 82, 97, 162, 174
 — генотипування 164, 172
 — гени схильності 62
- Фармакогенетика** 146, 197, 238–240, 247
 Фармакогеноміка 94, 238
 Фенотип 48, 50, 90, 163, 206, 209, 243–248, 289
- Фронтотемпоральна дегенерація 148, 152, 153
- Хвороба** Альцгеймера 141, 147, 148, 150, 151, 153
 — гіпертонічна 54, 110, 116, 123, 124, 135, 147
 — ішемічна серця 32, 54, 60, 61, 110, 111, 114, 115, 122, 139
 — Паркінсона 57, 147, 148, 151, 153
 Хромосомні аберації 262, 266
- Чутливість** 38, 39
- Циліопатії** 218–220, 224
- Ingenuity Pathway Analysis** 233
 ISSR 100
- Kin-Cohort Design** 42
- MIRU-VNTR** 168
 MRSA 180
- SNP** 50, 77, 79, 81, 98–100, 187, 194, 239
Spina bifida (див. Дефекти невральної трубки) 60, 210, 213, 215

Зміст

Передмова	3	3.2. Перспективи застосування методологічних підходів молекулярної епідеміології в Україні	52
Вступ	5	3.3. Молекулярна епідеміологія у клінічній медицині	53
Розділ 1. Клінічна епідеміологія: історія розвитку, завдання, методи	9	Список літератури	65
1.1. Становлення клінічної епідеміології	9	Розділ 4. Роль геноміки в розвитку молекулярної епідеміології	76
1.2. Клінічна епідеміологія як наукова дисципліна	10	Список літератури	92
1.3. Поняття про доказову медицину. Методологічні основи доказової медицини	13	Розділ 5. Методи молекулярної епідеміології	94
1.4. Перспективи розвитку клінічної епідеміології	19	5.1. Організація молекулярно-епідеміологічних досліджень	94
Список літератури	20	5.2. Молекулярно-генетичні та біохімічні біомаркери в молекулярній епідеміології	98
Розділ 2. Значення клінічної епідеміології для практичної медицини	26	5.3. Оцінка валідності молекулярно-епідеміологічних біомаркерів	103
2.1. Практичне значення впровадження принципів клінічної епідеміології	26	Список літератури	105
2.2. Методологія збирання даних у практиці клінічної епідеміології. Основи біомедичної статистики	27	Розділ 6. Молекулярна епідеміологія соціально значущих захворювань	109
2.2.1. Вплив типів даних	28	6.1. Проблеми молекулярної епідеміології серцево-судинних захворювань	110
2.2.2. Залежність від завдань дослідження	29	6.2. Проблеми молекулярної епідеміології захворювань обміну речовин	135
2.3. Характеристика спеціальних статистичних методів, які використовуються у клінічній та молекулярній епідеміології	39	6.3. Молекулярний аналіз й епідеміологія нейродегенеративних захворювань	147
Список літератури	42	Список літератури	155
Розділ 3. Від клінічної епідеміології до молекулярної епідеміології	45		
3.1. Розвиток молекулярної епідеміології та її методологія	45		

Розділ 7. Молекулярна епідеміологія інфекційних хвороб	163	9.2.3. Функціональні вроджені вади	212
7.1. Молекулярна епідеміологія туберкульозу	163	9.2.4. Мультифакторна і полігенна спадковість	214
7.2. Молекулярна епідеміологія ВІЛ	174	9.2.5. Хромосомні захворювання	217
7.3. Молекулярна епідеміологія вірусних гепатитів	176	9.2.6. Вплив тератогенів	225
7.4. Молекулярна епідеміологія інших інфекційних захворювань	179	9.2.7. Материнська патологія	229
Список літератури	180	9.3. Генетичні фактори репродуктивних втрат	230
Розділ 8. Молекулярна епідеміологія онкологічних захворювань	187	Список літератури	234
8.1. Маркери експозиції, дози	189	Розділ 10. Молекулярна епідеміологія та раціональна фармакотерапія	238
8.2. Маркери біологічно ефективної дози	191	Список літератури	250
8.3. Маркери внутрішньої дози	192	Розділ 11. Молекулярна епідеміологія довкілля	254
8.4. Маркери схильності	192	Список літератури	268
8.5. Гени чутливості: метаболізм канцерогенів і гени детоксикації	195	Розділ 12. Біоетичні проблеми і розвиток молекулярної епідеміології	278
8.6. Маркери зміненої структури або функції	196	Список літератури	284
8.7. Маркери діагнозу	197	Розділ 13. Підсумки досягнень і перспективи розвитку молекулярної епідеміології	286
8.8. Маркери прогнозу	197	Список літератури	296
Список літератури	199	Додаток. Перелік генів, асоційованих із підвищеним ризиком захворювання	298
Розділ 9. Молекулярна епідеміологія репродукції	201	Предметний покажчик	308
9.1. Генетичні фактори в репродуктивній епідеміології	205		
9.2. Генетичні фактори вроджених вад розвитку	208		
9.2.1. Моногенні мутації	212		
9.2.2. Автосомно-домінантні порушення	212		

Contents

Preface	3	3.1. Development of molecular epidemiology and its methodology	45
Introduction	5	3.2. Perspectives of methodological approaches application in Ukraine	52
Chapter 1. Clinical epidemiology: history of development, objectives, methods	9	3.3. Molecular epidemiology in the clinical medicine	53
1.1. Background of clinical epidemiology	10	References	65
1.2. Clinical epidemiology as a science	12	Chapter 4. The role of genomics in the development of molecular epidemiology	76
1.3. Conception about evidence based medicine. The methodological foundations of evidence based medicine	13	References	92
1.4. Perspectives of clinical epidemiology development	19	Chapter 5. Methods of molecular epidemiology	94
References	20	5.1. Organization of molecular epidemiological trials	94
Chapter 2. The significance of clinical epidemiology for practical medicine	26	5.2. Molecular-genetic and biochemical biomarkers in molecular epidemiology	98
2.1. Practical significance of the clinical epidemiology principles introduction	26	5.3. Evaluation of the molecular-epidemiologic biomarkers validity	103
2.2. Methodology of data acquisition in the clinical epidemiology. The foundations of biomedical statistics	27	References	105
2.2.1. Data types influence	28	Chapter 6. Molecular epidemiology of socially important diseases	109
2.2.2. Dependence on the research objectives	29	6.1. The problems of molecular epidemiology of cardiovascular diseases	110
2.3. Characteristics of special statistical methods using in the clinical and molecular epidemiology	39	6.2. The problems of molecular epidemiology of metabolic disorders	135
References	42	6.3. Molecular analysis and epidemiology of neurodegenerative diseases	147
Chapter 3. From clinical epidemiology to molecular epidemiology	45	References	155

Chapter 7. Molecular epidemiology of infectious diseases	163	9.2.1. Monogenic mutations	212
7.1. Molecular epidemiology of tuberculosis	163	9.2.2. Autosomal dominant disturbances	212
7.2. Molecular epidemiology of HIV-infection	174	9.2.3. Functional birth defects	214
7.3. Molecular epidemiology of viral hepatitis	176	9.2.4. Multifactorial and polygenic heredity	217
7.4. Molecular epidemiology of other infectious diseases	179	9.2.5. Chromosomal diseases	225
References	180	9.2.6. Teratogenic influence	225
		9.2.7. Maternal pathology	229
Chapter 8. Molecular epidemiology of oncological diseases	187	9.3. Genetic factors of reproductive failures	230
8.1. Exposure markers doses	189	References	234
8.2. Biologically effective dose biomarkers	191	Chapter 10. Molecular epidemiology and rational pharmacotherapy	238
8.3. Internal dose markers	192	References	250
8.4. Susceptibility markers	192	Chapter 11. Environmental molecular epidemiology	254
8.5. Receptivity genes: cancerogens metabolism and detoxication genes	195	References	268
8.6. Changed structure/function markers	196	Chapter 12. Bioethical problems and development of molecular epidemiology	278
8.7. Diagnosis markers	197	References	284
8.8. Prognosis markers	197	Chapter 13. Results of achievements and perspectives of molecular epidemiology development	286
References	199	References	296
Chapter 9. Molecular epidemiology of reproduction	201	Appendix. A list of genes associated with increased risk of disease	298
9.1. Genetic factors in reproductive epidemiology	205	Index	308
9.2. Genetic factors of birth development defects	208		

НАУКОВЕ ВИДАННЯ

ЗАПОРОЖАН Валерій Миколайович
БАЖОРА Юрій Іванович
КРЕСЮН Валентин Йосипович та ін.

МОЛЕКУЛЯРНА ЕПІДЕМІОЛОГІЯ

Провідний редактор *В. М. Попов*
Редактор *А. А. Гречанова*
Художній редактор *О. А. Шамиуріна*
Технічний редактор *А. В. Попов*
Коректори *О. В. Титова, Т. М. Ананьева, О. М. Фащевська*

Підп. до друку 30.06.2010. Формат 70×100/16. Папір офсет. № 1.
Друк офсет. Ум.-друк. арк. 24,57.
Обл.-вид. арк. 36,0. Тираж 5 прим. Зам. 1423.

Видавництво Одеського державного медичного університету
65082, Одеса, Валіховський пров., 2.
Свідоцтво ДК № 668 від 13.11.2001.

М 75 **Молекулярна епідеміологія** / В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, В. Й. Кресюн [та ін.] ; за ред. В. М. Запорожана. – Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2010. – 316 с.

ISBN 978-966-443-031-6

У книзі викладено історію зародження і розвитку нового наукового напрямку — молекулярної епідеміології. Визначена роль геноміки та інших «омік» у розвитку цієї науки. В окремих розділах описано досягнення молекулярної епідеміології у вивченні найбільш важливих соматичних захворювань, злоякісних новоутворень, інфекційних хвороб, а також молекулярно-епідеміологічні питання фармакогенетики і фармакогеноміки, розповсюдження і роль генів «довкілля». Наведено також результати молекулярно-епідеміологічних досліджень репродукції людини, біоетичні проблеми. Узагальнено досягнення молекулярної епідеміології, визначені перспективи її розвитку та можливі шляхи реалізації молекулярно-епідеміологічних досліджень в Україні.

Для науковців, що працюють у галузі молекулярної епідеміології, лікарів різних спеціальностей, студентів вищих навчальних закладів медико-біологічного профілю.

Рис. 47. Табл. 42. Бібліогр. : 1016 назв.

ББК 51.9:52.522.15



Валерій Миколайович Запорожан — лауреат Державної премії України, дійсний член Національної академії медичних наук України, член Президії НАМН України, доктор медичних наук, професор, ректор Одеського державного медичного університету, почесний доктор багатьох зарубіжних університетів і академій. Автор численних публікацій. За вагомий внесок у медичну науку нагороджений багатьма престижними нагородами, зокрема премією ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Золотою медаллю Альберта Швейцера та ін.



Юрій Іванович Бажора — доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України, лауреат Державної премії України, завідувач кафедри клінічної імунології, генетики і медичної біології, проректор з науково-педагогічної роботи Одеського державного медичного університету. Відомий фахівець у галузі медичної генетики й імунології. Автор понад 500 опублікованих праць, зокрема 42 монографій, підручників, poradників.



Валентин Йосипович Кресюн — доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАМН України, заслужений діяч науки і техніки України, завідувач кафедри загальної та клінічної фармакології, перший проректор Одеського державного медичного університету. Автор понад 700 опублікованих робіт, зокрема 110 монографій, підручників, poradників, 46 патентів України та зарубіжних країн.



Юрій Миколайович Ворохта — кандидат медичних наук, доцент кафедри гігієни і медичної екології Одеського державного медичного університету, старший науковий співробітник лабораторії гігієнічних проблем морського (водного) транспорту та рекреаційних зон ДУ «Інститут гігієни та медичної екології ім. О. М. Марзеєва НАМН України». Автор понад 50 наукових праць у галузі гігієни та профілактичної медицини.



Валерія Геннадіївна Марічереда — кандидат медичних наук, доцент кафедри акушерства та гінекології № 1 Одеського державного медичного університету, заступник директора Інституту молекулярної генетики і біології. Автор багатьох наукових праць.



Марина Михайлівна Чеснокова — старший викладач кафедри клінічної імунології, генетики і медичної біології Одеського державного медичного університету. Галузь наукових інтересів — молекулярна генетика. Автор понад 20 наукових публікацій, 4 навчальних посібників і підручників.